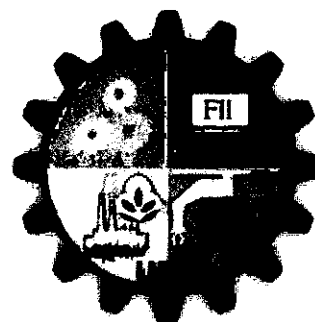


UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA
FACULTAD DE INGENIERÍA INDUSTRIAL
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA
AGROINDUSTRIAL E INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



“OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PECTINA A PARTIR DE
CÁSCARA DE CACAO (*Theobroma cacao L.*)”

PRESENTADA POR:
BR. KAREN MILAGROS NIZAMA YAMUNAKÉ.

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO
AGROINDUSTRIAL E INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

PIURA, PERÚ

2015

**“OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PECTINA A PARTIR DE
CÁSCARA DE CACAO (*Theobroma cacao* L.)”**

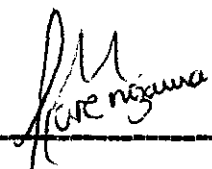
**TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OPTAR EL
TÍTULO DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL E INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS**

ASESOR:



ING. CORINA SANDOVAL MORALES Msc.

TESISTA:



BR. KAREN MILAGROS NIZAMA YAMUNAQUÉ.

PIURA, PERÚ

2015



UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA
FACULTAD DE INGENIERÍA INDUSTRIAL
DECANATO



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Calificador de la Tesis denominada: «**OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PECTINA A PARTIR DE CÁSCARA DE CACAO (*Theobroma Cacao L.*)**», presentado por la señorita **KAREN MILAGROS NIZAMA YAMUNQUÉ**, Bachiller de la Escuela Profesional en **Ingeniería Agroindustrial E Industrias Alimentarias**, asesorado por la **Ing. CORINA SANDOVAL MORALES**, Reunidos para la sustentación de ésta y luego de escuchar su exposición y las respuestas a las preguntas formuladas, la declaran:



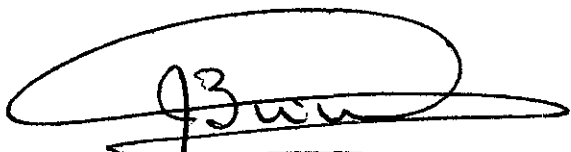
Con el Calificativo:

Aprobada

Bueno

En consecuencia el sustentante se encuentra **apto** para recibir el título profesional de **INGENIERO AGROINDUSTRIAL E INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**, conforme a Ley.


Piura, 27 de Noviembre del 2015



Dr. JOSÉ FEDERICO BAZÁN CORREA
PRESIDENTE – JURADO CALIFICADOR



Dr. JULIO CÉSAR JIMÉNEZ CHAVESTA
VOCAL – JURADO CALIFICADOR



ING. LUCIANO CASTILLO TORRES, MSc.
SECRETARIO – JURADO CALIFICADOR

DEDICATORIA

A Dios, nuestro creador, por todas las bendiciones recibidas, a mi abuelita Rosa Bitalia que se convirtió en el ángel de la familia.

A mis padres Milagros y Pedro, por su ejemplo de perseverancia y sacrificio, por la educación brindada y la oportunidad de cumplir con mis metas a nivel personal y profesional.

La autora

AGRADECIMIENTOS

A la Ing. Corina Sandoval Morales e Ing. Carmen Quito Rodríguez, por la orientación y el asesoramiento brindado, el apoyo durante el desarrollo del presente trabajo, por sus revisiones, observaciones y recomendaciones, así como las experiencias y el conocimiento compartido.

A la Asociación de Productores Agropecuarios Artesanales e Industriales San Francisco – Loma Larga, de manera especial a su asesor el Ing. Fabián Carrillo Chiroque; y a la Asociación de Pequeños Productores de Cacao de Piura – San Juan de Bigote por su colaboración al brindarme la materia prima.

Al Sr. Melesio Pintado y al Ing. Tomás Gonzales, profesionales encargados del Laboratorio de Control de Calidad de la Facultad de Ingeniería Pesquera - Universidad Nacional de Piura por permitir ejecutar la parte experimental en dicha instalación, además de brindar su tiempo y conocimiento, significando un notable aporte para el desarrollo de la investigación.

A mi familia y amigos de la universidad, que me apoyan desinteresadamente y de los cuales las palabras de aliento son infaltables.

Y a todas aquellas personas que de alguna manera colaboraron para poder llevar a cabo este trabajo de investigación.

La autora

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo obtener y caracterizar la pectina de la cáscara de cacao. El proceso de extracción de pectina se realizó utilizando como agentes de extracción el ácido cítrico y ácido clorhídrico, a pH 2 y 3, y tiempo de hidrólisis ácida de 60 y 90 minutos, aplicando un diseño factorial 2³. Se estudiaron el efecto de las variables independientes sobre la variable respuesta Rendimiento, en base a los análisis estadísticos y presentados gráficamente a través de un diagrama de Pareto.

Se obtuvo un rendimiento de extracción de 4,45 a 9,95 g/100g. Las pectinas extraídas con ácido cítrico a pH 2, tiempo de 90 minutos y ácido clorhídrico a pH 2 y tiempo de 60 minutos, demostraron tener el mayor rendimiento de 9.41 y 9.95g/100g respectivamente. Posteriormente se realizó la caracterización fisicoquímica de la pectina para evaluar su calidad, clasificándola como pectina de alto metoxilo.

En base a esta caracterización, se elaboró una mermelada utilizando pectina de cáscara de cacao, y a través del análisis sensorial se determinó su aceptabilidad frente a una mermelada elaborada con pectina comercial. Los resultados del análisis de varianza demuestran que no existe efecto significativo entre ambos productos en cuanto a la evaluación de sabor, olor y textura, pero si hay efecto significativo en cuanto al color presentado.

Palabras claves: Pectina, *Theobroma cacao* L, hidrólisis ácida.

ABSTRACT

In the present research, cocoa husk, a by-product of the chocolate industry, have been investigated as a potential source of pectins. The pectin extraction process is performed using as extraction agents are citric acid and hydrochloric acid, at pH 2 and 3, and acid hydrolysis time of 60 to 90 minutes, using a factorial design 2³. Influence of the independent variables has been studied on pectin yield, based on statistical analysis and presented graphically through a Pareto chart.

Extraction yield from 4.45 to 9.95 g / 100g was obtained. Pectins extracted with citric acid to pH 2 for 90 minutes and hydrochloric acid to pH 2 and 60 min, were shown to have the highest yield of 9.41 and 9.95g / 100g respectively. Secondly, physicochemical characterization of pectin was performed to evaluate their quality and classifying it as high methoxyl pectin.

Based on this characterization, marmalade has been prepared using pectin cocoa husk, and through the sensory analysis developed its acceptability was determined against a marmalade made with commercial pectin. The results of analyzes of variance show that no significant effect for the evaluation of flavor, odor and texture, but if there is significant effect for color.

Key words: Pectin, *Theobroma cacao* L., acid hydrolysis, cocoa husks.

ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I: ASPECTOS GENERALES	3
1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA.....	3
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	5
1.3. OBJETIVOS	5
1.3.1. Objetivo general	5
1.3.2. Objetivos específicos.....	5
1.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	6
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	9
2.1 MARCO REFERENCIAL.....	9
2.1.1 Materia Prima: Cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.).....	9
2.1.2 Clasificación Taxonómica.....	10
2.1.3 Variedades comunes del Cacao en el Perú.....	10
2.1.4 Productos de desecho de la manufactura de Cacao.....	14
2.1.5 Dinámica Nacional de Cacao	15
2.1.6 El Cacao en la Región Piura (Morropón y Huancabamba).....	18
2.2 BASES TEORICO CONCEPTUAL	20
2.2.1 Pectinas	20
2.2.2 Clasificación de las sustancias pécticas	20
2.2.3 Propiedades fisicoquímicas de las sustancias pécticas	23
2.2.4 Caracterización química de la pectina	26
2.2.5 Caracterización industrial de la pectina	30
2.2.6 Clasificación de la pectina	31
2.2.7 Fuentes de pectina convencionales y no convencionales.....	32
2.2.8 Métodos de extracción de pectinas	34
2.3 ANTECEDENTES	39

CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO.....	42
3.1. MATERIA PRIMA.....	42
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS	42
3.2.1 Materiales.....	42
3.2.2 Equipos.....	43
3.2.3 Reactivos.....	44
3.3 PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE PECTINA DE CÁSCARA DE CACAO	45
3.3.1 Manejo y acondicionamiento de la materia prima	45
3.3.2 Proceso de extracción y purificación de pectina	50
3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	54
3.4.1 Parámetros a estudiar en el proceso de extracción de pectina	54
3.4.2 Diseño de experimentos	56
CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	59
4.1 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y SENSORIALES DE LA MATERIA PRIMA.....	59
4.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	60
4.2.1 Justificación de la temperatura utilizada en la hidrólisis ácida	60
4.2.2 Influencia del pH, tiempo y agente de extracción en el rendimiento de pectina	61
4.3 CARACTERIZACIÓN DE LA PECTINA DE CÁSCARA DE CACAO	72
4.4 ELABORACIÓN DE MERMELADA PARA EVALUAR LA PECTINA DE CÁSCARA DE CACAO EN BASE A LA PECTINA COMERCIAL.....	74
4.5 EVALUACIÓN SENSORIAL DE LA MERMELADA PREPARADA	75
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES.....	78
CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES.....	80
BIBLIOGRAFÍA.....	81

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 2.1.- Frutos representativos de las variedades de <i>Theobroma cacao L.</i>	13
Figura N°2.2.- Procedimiento para el acondicionamiento de materia prima.....	35
Figura N°2.3.- Proceso para la obtención de pectina.	36
Figura N°3.1.- Diagrama de operaciones para el proceso de extracción de pectina.	49
Figura N°4.1.- Gráfico de Pareto estandarizado para el rendimiento de pectina con un nivel de significancia de 5%.....	64
Figura N°4.2.- Diagrama de efectos normales para el rendimiento.....	64
Figura N°4.3.- Diagrama de Pareto estandarizado para los efectos más importantes sobre el rendimiento de pectina con un nivel de significancia de 5%.	67
Figura N°4.4.- Gráfica de interacción entre los efectos principales sobre el rendimiento de pectina.	68
Figura N°4.5.- Gráfica de superficie para Rendimiento vs. pH, tiempo; utilizando ácido cítrico.....	69
Figura N°4.6.- Gráfica de superficie para Rendimiento vs. pH, tiempo; utilizando ácido clorhídrico.	70
Figura N°4.7.- Promedio de los atributos evaluados en el análisis sensorial.	76

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N°2.1.- Composición química de la cáscara fresca de cacao (g/100g).....	15
Cuadro N°2.2.- Producción Nacional (t). Periodo Enero-Diciembre, 2000-2010.....	16
Cuadro N°2.3.- Resumen de producción nacional (t). Periodo Enero Diciembre, 2010 - 2013.	17
Cuadro N°2.4.- Rendimiento promedio del cultivo de cacao. Año 2000-2010 (kg/ha).....	18
Cuadro N°2.5.- Resumen de rendimiento promedio del cultivo de cacao. Año 2010-2013 (kg/ha).....	18
Cuadro N°2.6.- Especificaciones oficiales de pureza para pectinas comerciales.....	27
Cuadro N°2.7.- Relación entre el grado de esterificación y el porcentaje de metoxilos.	29
Cuadro N°3.1.- Factores y niveles del diseño de experimentos.	56
Cuadro N°3.2.- Diseño factorial 2 ^k : Características del experimento.	57
Cuadro N°4.1.- Características químicas y sensoriales de la cáscara de cacao deshidratada.	60
Cuadro N°4.2.- Análisis de varianza para rendimiento de pectina con un nivel de significancia de 5%.	62
Cuadro N°4.3.- Análisis de varianza de efectos más importantes sobre el rendimiento de pectina con un nivel de significancia de 5%.	66
Cuadro N°4.4.- Coeficientes de regresión para rendimiento de pectina.	67

Cuadro N°4.5.- Resultados para el rendimiento de pectina.....	71
Cuadro N°4.6.- Resultados de la caracterización química de pectina	72
Cuadro N°4.7.- Evaluación del grado de gelificación de la pectina obtenida.	73
Cuadro N°4.8.- Comparación de propiedades de pectina comercial vs. pectina de cáscara de cacao.....	74

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°01.- Aplicaciones de la pectina en los alimentos.....	85
Anexo N°02.- Informe de ensayos químicos para cáscara de cacao deshidratada y molida.	86
Anexo N°03.- Imágenes del proceso de extracción de pectina.	87
Anexo N°04.- Determinaciones realizadas a la pectina de cáscara de cacao.	90
Anexo N°05.- Descripción del proceso de elaboración de mermelada.	95
Anexo N°06.- Diagrama de operaciones del proceso – Mermelada de papaya con maracuyá.	99
Anexo N°07.- Análisis estadístico en programa Minitab 17.....	100
Anexo N°08.- Gráficas de contorno para evaluación de la influencia de las variables sobre el rendimiento de pectina.	101
Anexo N°09.- Ficha de evaluación sensorial.	102
Anexo N°10.- Tabla de resultados para la evaluación sensorial.	103
Anexo N°11.- Resumen del ANVA para la evaluación sensorial.	104

INTRODUCCIÓN

El Cacao (*Theobroma cacao* L.) es uno de los productos agroalimentarios de origen neotropical de mayor penetración en el mercado internacional; y es el Perú uno de los países que en los últimos años ha incrementado las exportaciones de este fruto por ser cotizado en el exterior dada su gran calidad y aroma para la elaboración de finos chocolates.

Durante muchos años se ha usado únicamente el 10% del fruto del cacao, es decir, solo se hace uso de las semillas para fabricar chocolate y sus derivados. La cáscara que representa el mayor volumen del fruto, es desechada por el agricultor siendo un foco para la propagación del hongo *Phytophthora spp*, que afecta a las plantaciones de cacao y es la causa principal de pérdidas económicas de dicha actividad, además el inadecuado manejo de los residuos conduce a serios problemas ambientales tales como la aparición de olores fétidos y deterioro del paisaje.

Por lo tanto, en base a las características químicas y a la presencia de protopectina en la estructura celular de la cáscara de cacao, es que se ha propuesto como fuente de pectinas a nivel comercial, por su relativo bajo costo. Las pectinas son útiles por su capacidad para formar geles y se usan en la industria alimentaria como gelificantes, espesantes, texturizantes, emulsificantes, estabilizantes y su aplicación más común es en la manufactura de mermeladas y jaleas.

En el Capítulo I se describen los lineamientos de la investigación, describiendo la realidad problemática y definiendo los objetivos del estudio. El Capítulo II se presenta el marco referencial y las bases teórico conceptuales.

El proceso de extracción de pectina se realizó siguiendo los pasos y parámetros establecidos en el Capítulo III. El contenido de pectina está expresada en función al Rendimiento y su calidad expresada como porcentaje de Ácido Galacturónico, una de sus principales características químicas.

El Capítulo IV muestra los resultados obtenidos de la investigación. El análisis de estos resultados se determinó mediante la aplicación de un diseño factorial 2^3 utilizando el software estadístico Minitab 17. Además se muestra un análisis de la influencia que ejercen las variables independientes frente a la variable respuesta Rendimiento. Posteriormente se realizó la caracterización fisicoquímica de la pectina que mostró mejores rendimientos, con la finalidad de determinar su pureza y clasificarla según los estándares establecidos. Finalmente, como aplicación del producto en la industria alimentaria, se preparó una mermelada utilizando la pectina de cáscara de cacao en comparación a la pectina comercial, y se realizó el análisis sensorial respectivo para determinar diferencias significativas entre ambas mermeladas.

CAPÍTULO I

ASPECTOS GENERALES

1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

En los últimos años los productos bionaturales han cobrado importancia debido a sus innumerables beneficios para la salud y su potencial uso en la industria alimentaria. Uno de estos productos es la pectina que es un polisacárido de origen vegetal, heterogéneo, higroscópico y soluble en ácidos y agua, con propiedades de gelificación, estabilización de emulsiones y aporte de fibra nutricional. Se encuentran en la pared celular primaria en las regiones intercelulares de frutas y vegetales.

La función comercial más importante de las pectinas en los alimentos es actuar como gelificante, agente de textura y espesante en alimentos procesados, emulsionante y estabilizante en productos lácteos y en helados.

El uso de pectina en mermeladas es una de las aplicaciones más conocidas. Se ha descrito que las pectinas contienen cualidades terapéuticas (reductor de colesterol e inductor de apoptosis de células cancerígenas del colon), razón por la cual también se emplean en el área farmacéutica (Sánchez Aldana-Villaruel et al, 2011)

Actualmente, para fines industriales las principales fuentes de obtención de las pectinas se restringe principalmente a las cáscaras de los frutos cítricos (20-33%), infrutescencia del girasol (15-25%), remolacha (10-20%) y pulpa de manzana (10-15%) debido a su alto rendimiento y calidad; por lo tanto surge la necesidad de buscar otras fuentes

comerciales de pectina con el objeto de cubrir parcialmente la creciente demanda en el mercado (Chasquibol, Arroyo y Morales, 2008).

La naturaleza de las sustancias pécticas es heterogénea y por lo tanto el contenido y características de pectina es variable según cada tejido vegetal, además de su etapa de desarrollo y origen, por lo que es necesario el estudio de diversas fuentes de materia prima como posibles fuentes de extracción de pectina.

Debido a que las pectinas son compuestos que generalmente se emplean en alimentos, es necesario extraerlas del tejido vegetal mediante el uso de reactivos, disolventes y equipos que no dejen residuos tóxicos en el producto final. Por ello, el proceso de extracción debe cumplir con estas necesidades; siendo necesario establecer los parámetros adecuados para obtener un producto de la mejor calidad con el mayor rendimiento posible, además las propiedades fisicoquímicas de la pectina extraída tales como porcentaje de cenizas, grado de gelificación y grado de esterificación entre otros, deben estar dentro del rango apropiado para que las cualidades de este polisacárido de origen vegetal puedan aprovecharse.

En el Perú, una de las principales actividades económicas es la industrialización del Cacao. En el año 2012 la producción de granos de Cacao fue de 44 434 toneladas¹. Si se considera que la relación entre el rendimiento de la semilla seca y la cáscara fresca es de 1:10 (*Barazarte, Sangronis y Unai, 2008*), entonces se generó alrededor de 440 mil toneladas de cáscara solamente en el año señalado. Por lo tanto, la cáscara al representar el mayor subproducto en la industria cacaotera conlleva a investigar su uso en la industria alimentaria

¹ Ministerio de Agricultura. Boletín del Sistema Integrado de Estadísticas Agrarias. Agosto 2013

como fuente de pectinas y gomas, puesto que son pocos los estudios científicos en el país para la obtención de pectina a partir de este residuo.

La presente investigación busca obtener pectina de la cáscara de cacao, utilizando la metodología de hidrólisis ácida, estudiando las principales variables que afectan la extracción y determinando las características fisicoquímicas del producto final para su posterior uso en la industria alimentaria.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Qué características fisicoquímicas presenta la pectina obtenida de la cáscara de Cacao (*Theobroma cacao L.*), al aplicar el método de hidrólisis ácida?

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo general

Caracterizar la pectina obtenida de la cáscara de Cacao (*Theobroma Cacao L.*) al utilizar el método de hidrólisis ácida en el proceso de extracción.

1.3.2. Objetivos específicos

- Caracterizar la materia prima a estudiar realizando análisis fisicoquímicos
- Determinar los parámetros adecuados: agente de extracción, pH y tiempo de hidrólisis, en el proceso de obtención de pectina de cáscara de Cacao.

- Evaluar las principales características fisicoquímicas de la pectina obtenida a partir de la cáscara de Cacao.
- Analizar el grado de gelificación de la pectina extraída en comparación con la pectina comercial proveniente de la cáscara de cítricos, en la elaboración de un producto agroindustrial que requiera el uso de este aditivo alimentario.

1.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

En la actualidad ha cobrado importancia la tendencia y necesidad de utilizar al máximo todos los recursos, incluyendo los residuos de los procesos productivos agroindustriales.

Según Chasquibol et al. (2008), la pectina es ampliamente usada como ingrediente funcional en la industria de los alimentos y como fuente de fibra dietética, debido a su habilidad para formar geles acuosos. Los geles de pectina son importantes para crear o modificar la textura de compotas, jaleas, salsas, ketchup, mayonesas, confites; en la industria láctea para la fabricación de yogures frutados y productos lácteos bajos en grasa, en la industria de bebidas dietéticas para la preparación de refrescos, debido a su bajo contenido de carbohidratos, por sus propiedades estabilizantes y por incrementar la viscosidad. Además, tiene efectos beneficiosos en la salud siendo utilizada en la industria farmacéutica y cosmética. Es empleada como ingrediente en preparaciones farmacéuticas como antidiarreicos, desintoxicantes y algunas drogas son encapsuladas con una película de pectina para proteger la mucosa gástrica y permitir que el componente activo se libere en la circulación de la sangre. También se emplean como agentes absorbentes de lipoproteínas (productos farmacéuticos para bajar de peso) y últimamente se está investigando su

aplicación como membranas biopoliméricas cicatrizantes, se utiliza en la producción de plásticos así como en la fabricación de productos espumantes, como agentes de clarificación y aglutinantes, y como material para la absorción de contaminantes de efluentes industriales líquidos; lo que demuestra el potencial y las aplicaciones futuras que se esperan de la pectina.

La obtención de pectinas a partir de diferentes fuentes vegetales, es un tema de amplia importancia, debido a la problemática de desabastecimiento en algunos países y la posibilidad de buscar nuevas fuentes para su obtención a partir de recursos bióticos propios de una región o incluso de residuos agroindustriales. El Perú, al igual que la gran mayoría de los países de Latinoamérica, no produce pectina ni sus derivados, importándose para cubrir la demanda de la industria alimentaria y farmacéutica.

Durante la extracción de los granos de cacao, la cáscara que representa el 52-76% del peso de la fruta del cacao, son arrojados a los campos cerca de las plantas de procesamiento, causando problemas ambientales debido a los malos olores producto de la descomposición. Además, dada la gran demanda de las semillas del cacao principalmente por la industria del chocolate, las cantidades de cáscaras seguirán aumentando representando un serio desafío para la gestión de residuos. En los países productores de cacao el tratamiento de estos residuos puede ofrecer ventajas económicas y disminuir los problemas ambientales asociados, siendo una alternativa la producción de pectina.

En las investigaciones realizadas a nivel local y nacional no se han encontrado estudios plasmados sobre la utilización de los subproductos del cacao, esto se debe a la falta de información de los productores hacia los usos y beneficios que este residuo podría generarles.

Por lo tanto, la importancia de este trabajo es abrir nuevas expectativas acerca de la producción nacional de aditivos alimentarios utilizando los diversos recursos propios de la región y cuyos subproductos son desaprovechados, aumentando el valor agregado y otorgando una solución parcial al problema generado por las cáscaras.

Así mismo los beneficiarios de la presente investigación son:

- Universidad Nacional de Piura, porque demuestra la capacidad de investigación de sus estudiantes.
- La Facultad de Ingeniería Industrial y la Escuela profesional de Ingeniería Agroindustrial e Industrias Alimentarias, porque se demostrará que los egresados de esta profesión son capaces de innovar en la industria alimentaria, generando valor agregado a los subproductos o residuos que se generan en la actividad agroindustrial.
- Investigadores o estudiantes, puesto que les servirá como antecedente para la realización de otros trabajos y tendrán en cuenta una metodología que les garantice el rigor científico de la presente investigación.
- La obtención de pectina a escala de laboratorio, puede ser el punto de partida para otras investigaciones que busquen la industrialización de este aditivo alimentario, aplicando herramientas tecnológicas e ingenieriles para mejorar la productividad y disminuir costos.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 MARCO REFERENCIAL

2.1.1 Materia Prima: Cacao (*Theobroma cacao L.*)

El cacao (*Theobroma cacao L.*), es una especie endémica de América del Sur cuyo centro de origen está localizado en la región comprendida entre las cuencas de los ríos Caquetá, Putumayo y Napo, tributarios del río Amazonas. En esta región se han encontrado los más diversos tipos de frutos, algunos parecidos a la variedad ‘Criollo’, denominados "criollos de montaña", “amelonados” grandes como la variedad ‘Nacional’ del Ecuador, “angoletas” parecidos a los clones Parinaris y otros tipos de “amelonados”.

Es una planta perenne de porte bajo, de aproximadamente seis metros de altura, con ramas esparcidas que presentan un marcado dimorfismo, las hojas son pequeñas, pecioladas, elípticas, oblongas y ovaladas de 15 a 30 centímetros de largo, redondas y obtusas en la base.

Las flores son hermafroditas, actinomáficas, pentámeras, aparecen sobre la corteza vieja, bien sea en el tronco, en las ramas principales o en las ramificaciones secundarias, los frutos llamados mazorcas o pocha, consisten en una drupa grande indehiscente sostenida por un pedúnculo leñoso que procede del engrosamiento del pedicelo de la flor. (Tuchán, 2004).

Los frutos del Cacao son bayas, con tamaños que oscilan de 10 – 42 cm, de forma variable (oblonga, elíptica, ovada, abovada, esférica y oblata); de superficie lisa o rugosa, y de color rojo o verde al estado inmaduro, según los genotipos. El ápice puede ser agudo, obtuso, atenuado, redondeado, apezonado o dentado; la cáscara gruesa o delgada, y los surcos superficiales o profundos. El epicarpio y el endocarpio son carnosos estando separados por un mesocarpio fino y leñoso.

2.1.2 Clasificación Taxonómica

REINO	:	Vegetal
TIPO	:	Espermatofita
SUBTIPO	:	Angiosperma
CLASE	:	Dicotiledóneas
SUBCLASE	:	Dialipétalas
ORDEN	:	Malvales
FAMILIA	:	Esterculiácea
GÉNERO	:	Theobroma
ESPECIE	:	Cacao

Fuente: Luzuriaga, 2012

2.1.3 Variedades comunes del Cacao en el Perú

a) Criollos

Crece bajo condiciones semi-silvestre y se distribuyen desde México hasta Colombia y Venezuela. Son árboles poco vigorosos, de lento crecimiento, más susceptibles a enfermedades e insectos que los “Forasteros” y se caracterizan por su alta diversidad morfológica.

El fruto (Fig. 1a), es de forma variable (alargados, amelonados y cundeamor), con ápice acuminado y de superficie lisa o rugosa. Las mazorcas son rojas o verde al estado inmaduro y tienen un pericarpio ligeramente lignificado. Las almendras son generalmente grandes y gruesas, con cotiledones blancos o rosados y tienen mejor calidad de chocolate que los ‘Forasteros’.

b) Forasteros del Alto Amazonas

Crece al estado silvestre y domesticado en la Amazonía Alta (Perú, Ecuador y Colombia). Son árboles vigorosos con frutos verdes (Fig. 1b) y de forma variable. En los Forasteros del Alto Amazonas, pueden existir mazorcas con mayor rugosidad y constricción basal acentuada. Las almendras son generalmente pequeñas y con ciertas excepciones grandes; de sección transversal aplanada y cotiledones morado o violeta. Ciertamente hay excepciones en el color, pudiéndose encontrar cotiledones blancos como en la variedad Porcelana de Piura (Perú).

c) Forasteros del Bajo Amazonas

Crece al estado silvestre y domesticado en la Amazonia Baja (Brasil, Surinam, Guyana Francesa), y a lo largo del Orinoco (Venezuela). Las mazorcas generalmente son de menor tamaño, ligeramente rugosas y de forma amelonada, comparado con los “Criollos”- tipo “cundeamor” (Fig. 1c). Las almendras son generalmente pequeñas e intermedias; de color de cotiledón morado y excepcionalmente, blanco como la variedad “Catongo” de Brasil.

d) Nacional

Es el único grupo natural de cacao que se cultiva en el occidente de Ecuador. Se cree que se originó en la región oriental de la Amazonía alta del Ecuador. Por su calidad fina de la almendra éste grupo está más relacionado al grupo “Criollo” que al grupo “Forastero”. Los árboles son altos, producen mazorcas grandes semejantes a los “amelonados”, pero con surcos más profundos; las almendras son grandes y de color morado pálido u oscuro o marrón. Las semillas fermentan en 4-5 días y tienen un intenso aroma floral. (Fig. 1d).

e) Trinitarios

Son árboles que nunca se han encontrado en estado silvestre y que generalmente poseen características intermedias entre los “Criollos” y “Forasteros”. Los clones “Trinitarios” han sido obtenidos de cruas naturales entre “Criollos” de origen desconocido con “Forasteros” que probablemente provenían del estado de Bolívar en Venezuela (Fig. 1e). Los “Trinitarios” vigorosos fueron diseminados en los países de América Latina y el Caribe e introducidos alrededor de 1850 en África occidental donde fueron cruzados con el “amelonado” que fue introducido más antes. Mediante marcadores moleculares se ha confirmado la naturaleza híbrida del tipo “Trinitario” (“Criollo” x “Forastero”)

Figura N°2.1.- Frutos representativos de las variedades de *Theobroma cacao* L.



(b) "Criollo"



(a) "Forastero del Alto Amazonas"



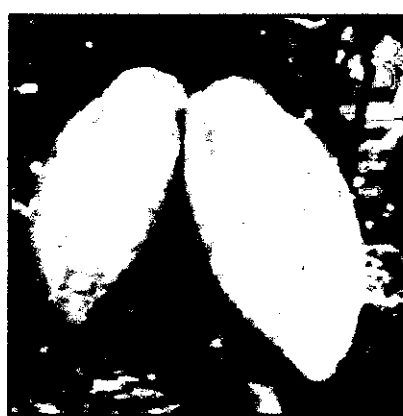
(c) "Forastero del Bajo Amazonas"



(d) "Nacional"



(e) "Trinitario"



Fuente: M&O Consulting S.A.C

2.1.4 Productos de desecho de la manufactura de Cacao.

En el procesamiento industrial del *Theobroma cacao L.*, se obtienen desechos en cada una de las etapas para la fabricación de los derivados del Cacao.

a) Cáscara

Corresponde al 90% del fruto, es el principal desecho del proceso de beneficio del Cacao. Las cáscaras representan un grave problema para los agricultores, ya que al ser usado como abono sin compostar, se convierten en una fuente significativa de enfermedades causada por varias especies del género *Phytophthora*. (Betancourt, 2008)

Representan un importante componente de los residuos agrícolas y desechos agroindustriales en el mundo, constituyendo una buena fuente de recursos renovables y energía. Internacionalmente se viene desarrollando posibles usos de la cáscara de cacao, como fuente de fertilizantes de suelos, alimento para aves y animales, fuente de pectinas y gomas, elaboración de carbón activado y obtención de fibra dietaria.

La cáscara de cacao, se encuentra disponible en las regiones tropicales. Representa un 74 % del peso total del fruto fresco. La cáscara de cacao contiene 6-8 % de proteína cruda y 24-36 % de fibra cruda, y por cada kilogramo de semilla seca de cacao, quedan aproximadamente 2 Kg. de cáscara seca en el campo, que se desperdicia totalmente (Tuchán, 2004).

Cuadro N°2.1.- Composición química de la cáscara fresca de Cacao (g/100g).

COMPONENTE	PORCENTAJE
Materia seca	87.4
Ceniza	7.8
Extracto etéreo	0.5
Proteína	6.3
Fibra cruda	24
Carbohidratos	61.4

Fuente: Tuchán, 2004

b) Cascarilla

Es un desecho propio del procesamiento industrial y representan cerca del 12% de la semilla, estas son obtenidas después del proceso de tostado, son tratadas usadas como fuente alimenticia para animales gracias a su contenido de fibra dietaria, pero el contenido de alcaloides restringe su uso. (Baena y García, 2012)

2.1.5 Dinámica Nacional de Cacao

a) Superficie cosechada

La tasa de crecimiento en la superficie ha tenido un crecimiento desde el año 2000-2010 de 87.07%, la región de mayor crecimiento en este periodo es San Martín con 1167.72%, teniendo en el año 2000, una superficie de 1,936 hectáreas, para tener en el año 2010 unas 24,543 ha, seguido de Amazonas con un crecimiento de 65.79 %, teniendo en el año 2000 unas 3,826 ha, para tener en el año 2010 unas 6,343 ha, Cusco con un crecimiento de 56,62% teniendo unas 13,695 ha pasa a tener en el año 2010 unas 21,449 ha, Junín con un crecimiento de 50.99%, teniendo en el año 2000 unas 5,666 ha, para pasar en el 2010 a tener unas 8,555 ha y Ucayali con un crecimiento de 40.87%, teniendo en el año 2000, unas

805 ha, a tener unas 1,134 ha en el año 2010. En tanto Ayacucho y Cajamarca manteniendo crecimientos negativos a comparación a las otra regiones siendo -2.46% y -1,70%.²

b) Producción Nacional

El crecimiento en la producción de cacao a nivel nacional desde el periodo 2000-2010, ha tenido tendencias a mantenerse en crecimiento en la producción, siendo San Martín el de mayor crecimiento en el periodo 2000-2010, con 1786,79 %, seguido de Ucayali 162.60%, Junín con 110.63% y Cajamarca con 53.16 %.

La participación en la producción en el año 2010, lo lidera el departamento de San Martín con 45.05%, seguida de Cusco con 15.43%, Ayacucho con 13.44%, Junín con 9.53%, como principales regiones productoras de cacao a nivel nacional.

Cuadro N°2.2.- Producción Nacional (t). Periodo Enero-Diciembre 2000-2010

Regiones	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Cusco	8,943	8,357	7,139	6,182	6,708	6,698	7,638	5,732	6,837	6,743	7,192
San Martín	1,113	1,814	2,298	2,494	2,704	2,975	5,992	8,411	10,643	12,440	21,000
Ayacucho	6,297	5,393	5,738	5,722	5,997	5,603	5,834	6,359	6,313	6,286	6,263
Junín	2,108	2,237	2,546	3,026	3,352	3,571	4,045	3,986	4,057	4,036	4,440
Amazonas	2,922	2,384	3,241	3,357	3,349	2,642	3,929	2,729	2,136	2,858	2,788
Huánuco	1,968	2,001	1,939	1,925	2,020	1,977	1,915	1,736	1,604	1,710	1,840
Cajamarca	649	661	651	666	620	761	932	963	976	969	994
Ucayali	393	326	301	346	548	556	827	775	820	924	1,032
Resto del País	393	499	501	496	622	474	564	697	619	838	1,064
Total	24,786	23,672	24,354	24,214	25,920	25,257	31,676	31,388	34,005	36,804	46,613

Fuente: MINAGRI – OEEE³

² MINAGRI-Dirección General de Competitividad Agraria. Resumen Ejecutivo Cacao.

³ MINAGRI- Oficina de Estudios Económicos y Estadísticos.

**Cuadro N°2.3.- Resumen de producción nacional. Periodo Enero - Diciembre
2010 - 2013**

Año	2010	2011	2012	2013^{p/}
Producción (Toneladas)	46,613	56,499	62,492	71,838

p/ Estudio preliminar

Fuente: MINAGRI – OEEE

c) Rendimiento Promedio

Los rendimientos del cacao varían de acuerdo a la zona de producción del mismo, la región con el mayor rendimiento promedio es Ucayali con 910 Kg/ha en el año 2010, seguido de San Martín con 856 kg/ha, Cajamarca con 820 kg/ha, Ayacucho con 708 kg/ha, Junín con 519 kg/ha, Huánuco con 480 kg/ha y Amazonas con 440 kg/ha.

La variación en el rendimiento entre periodo 2000-2010 ha sido de 15.61%, de los cuales ha tenido crecimientos para las región de Ucayali con 86.48%, seguido de Cajamarca con 55.60%, San Martín con 48.87%, Junín con 39.52%, Huánuco con 7.14% y Ayacucho con 2.02%, regiones que presentaron crecimiento positivo, Cusco y Amazonas presentaron decrecimientos de -48.70% y -42.41%.

Cuadro N°2.4.- Rendimiento Promedio del cultivo Cacao. Año 2000-2010 (kg/ha)

Regiones	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Cusco	653	475	348	299	323	321	368	284	326	330	335
San Martín	575	570	618	647	641	702	732	780	804	793	856
Ayacucho	694	668	711	703	736	688	716	719	713	710	708
Junín	372	346	382	441	475	529	579	563	516	492	519
Amazonas	764	639	903	940	935	742	630	441	347	454	440
Huánuco	448	459	452	449	447	460	504	469	471	476	480
Cajamarca	527	542	534	555	516	634	774	799	813	805	820
Ucayali	488	804	871	885	897	916	1196	861	893	945	910
Resto del País	604	732	718	750	796	771	762	768	696	790	857
Rend. Promedio	569	582	615	630	641	640	696	632	620	644	658

Fuente: MINAGRI – OEEE

Cuadro N°2.5.- Resumen de rendimiento promedio del cultivo Cacao.**Año 2010-2013 (kg/ha)**

Año	2010	2011	2012	2013
Rendimiento (kg/ha)	604	671	683	736

Fuente: MINAGRI – OEEE

2.1.6 El Cacao en la Región Piura (Morropón y Huancabamba)

Actualmente, la producción de cacao se concentra principalmente en el valle del Alto y Medio Piura, desde Buenos Aires hasta Serrán, Tunal y Canchaque (provincias de Morropón y Huancabamba).

En los últimos años, la actividad del cacao ha ido aumentando debido al incremento de los precios como consecuencia de la mayor demanda externa por el cacao peruano, y en particular por el cacao variedad Porcelana, adaptado a los valles del Alto Piura y que se caracteriza por su fina calidad; motivo por el cual su cotización es superior al de los otros cultivares de cacao existentes en el país, y casi toda su producción se exporta a nichos de mercados especiales

En la región Piura, las pequeñas plantaciones de cacao se ubican entre las terrazas costeñas y la sierra media, bajo un sistema diversificado de cultivos, donde el cacao se intercala con el banano y el mango. Son pocas las plantaciones en que el cacao se maneja bajo un sistema de monocultivo. La época principal de cosecha se presenta entre los meses de enero a mayo, donde se obtiene alrededor del 80 % del volumen total del producto cosechado.

De acuerdo a los técnicos de la zona, en las plantaciones de cacao existe una importante diversidad de variedades originados por la polinización cruzada que generan un material genético con características especiales de sabor y aroma, influenciados por la acción del medio ambiente (suelo y clima). Entre éstas predominan las variedades “criollas” de almendra blanca, marfil o violáceo; variedades “forasteros” de almendra morado o violácea y en menor proporción las variedades trinitarias: ICS 95, ICS 6, ICS 1, y segregantes.

2.2 BASES TEORICO CONCEPTUAL

2.2.1 Pectinas

La pectina es una sustancia natural que se forma principalmente en la pared primaria y en los tejidos mesenquimáticos y parenquimáticos de frutos y vegetales, y tiene la función de cemento intercelular. La pectina fue aislada por primera vez por el químico francés Henri Braconnot en 1825, quien la designó como “pectina”, que deriva del griego *pektikos*, que significa congelar o solidificar.

La pectina forma coloides por excelencia, ya que tiene la propiedad de absorber una gran cantidad de agua, pertenecen a la familia de los oligosacáridos y polisacáridos de alto peso molecular y contienen largas cadenas formadas por unidades de 1,4- α -D-ácido galacturónico (GalpA). Tres polisacáridos pécticos (homogalacturona, rhamnogalacturona-I y galacturonas sustituidas) han sido separados y caracterizados y todos contienen GalpA en mayor o menor cantidad. (Chasquibol, 2008)

2.2.2 Clasificación de las sustancias pécticas

Los componentes pécticos de los vegetales han sido clasificados y se le ha dado distintas denominaciones. Las adoptadas por la American Chemical Society en 1949, citado por Puerta (1996) son:

a) Sustancias pécticas:

Es una designación para aquellas complejas sustancias de carbohidratos coloidales los cuales se encuentran, o son preparados desde las plantas y contienen una larga proporción de unidades de ácido anhidrogacturónico unidos en forma de cadena. Los grupos carboxilos de estos ácidos poligacturónicos pueden estar parcialmente esterificados por grupos metil y parcial o completamente neutralizados por uno o más bases.

b) Protopectinas

Es la precursora de la pectina. En las protopectinas se reúnen todas las sustancias pécticas no solubles que fácilmente se desintegran. Se encuentran en la pared celular de los tejidos vegetales, específicamente en las capas intracelulares, confiriendo rigidez al fruto.

Durante la etapa de maduración, la protopectina insoluble posee un 100% de metoxilación; se transforma en pectina soluble al perder metoxilos, lo que conlleva a la pérdida de firmeza de los frutos. Es por esto que la mayor concentración de protopectina se encuentra en los tejidos vegetales en crecimiento.

c) Ácidos pécticos

Abarca a aquellos ácidos poligacturónicos coloidales que contienen una mínima cantidad, o no contienen grupos carboxilos esterificados por el grupo metilo (COOCH_3); ni por bases. Debido a esto su grado de esterificación es de 0%.

d) Ácidos pectínicos

Este término define los ácidos poligalacturónicos coloidales, que contienen una porción variable de grupos metoxilos. Se originan de los ácidos poligalacturónicos puros de la protopectina por esterificación de algunos grupos carboxilos libres de metanol por acción de una enzima llamada pectin metilesterasa la cual va solubilizándola.

Los ácidos pectínicos, bajo condiciones apropiadas, son capaces de formar geles con ácido y azúcar, así como, si la cantidad de grupos metil-éster es baja, en presencia de ciertos iones polivalentes. En la nomenclatura no existe ácido pectínico con todos los carboxilos esterificados. Todas las tentativas para aislar tal ácido pectínico, que habría de contener 16.3% de metoxilo, han fallado; en la práctica, el máximo contenido de metoxilo es de 14%.

e) Pectinatos

Sales ácidos o neutras de ácidos pectínicos

f) Pectatos

Sales ácidos o neutros de ácidos pectínicos.

g) Pectina

Ácidos pectínicos de alto peso molecular que son solubles en agua y que tienen polímeros de ácido galacturónico con una cantidad variable de grupos éster metílicos y grado

de neutralización (Figura 2), que son capaces de formar geles en condiciones apropiadas de azúcar y ácido, o, si su cantidad de grupos metil-ester es baja, con ciertos iones polivalentes. Su precursor es la protopectina, que es una sustancia péctico insoluble en agua que origina pectina soluble por despolimerización parcial.

2.2.3 Propiedades fisicoquímicas de las sustancias pécticas

La solubilidad, viscosidad y la habilidad de formación de gel de las sustancias pécticas dependen de sus características químicas, tales como el grado de esterificación, peso molecular, más la presencia y niveles de compuestos químicos que pueden ser parte de la molécula de pectina. Según Puerta (1996), la pectina presenta las siguientes características fisicoquímicas.

a) Solubilidad en agua

Las pectinas son solubles en agua pura, insolubles en soluciones acuosas en las cuales podrían gelificar a la misma temperatura si antes se disolviera en una mayor temperatura. La pectina es generalmente insoluble en compuestos orgánicos (Graham, citado por Puerta, 1996)

La experiencia ha demostrado que las pectinas se disuelven mejor en soluciones que no contienen más de 25 % de sólidos solubles.

La solubilidad de una pectina será rápida cuando muestra un alto grado de dispersión, lo cual previene la formación de grumos, viscoso por fuera y secos por dentro,

después de la adición de agua; por esta razón es recomendable que la pectina se mezcle antes con un poco de azúcar (5 partes o más su peso), o también con etanol o acetona antes de añadirle agua. La dispersabilidad de las partículas de pectina puede ser promovida por el revestimiento de una capa delgada de iones tales como aluminio, hierro, níquel, cromo y cobre.

La solubilidad de las pectinas en agua es determinada por el número de grupos metoxilos, su distribución y peso molecular. Generalmente aumenta con un mayor grado de metilación pero es inversamente proporcional al peso molecular. Sin embargo, el pH, temperatura, tipo y concentración de sales presentes juegan un papel muy importante en la solubilidad.

b) Viscosidad

Las soluciones de pectina exhiben un comportamiento de fluido No Newtoniano, pseudoplástico característico de la mayoría de polisacáridos. La viscosidad depende del grado de polimerización de la pectina, del pH de la solución, del peso molecular, de la presencia de electrolitos, de la temperatura y de la concentración de la pectina.

El calcio y otros iones polivalentes incrementan la viscosidad de las soluciones de pectina y soluciones de pectina de bajo metoxilo (LM), puede aún gelificar si el contenido de calcio excede un cierto límite.

c) Coagulación

Los polisacáridos y otros polímeros solubles en agua, se coagulan por adición de compuestos orgánicos y sustancias inorgánicas, especialmente electrolitos.

El fenómeno de coagulación de tales polímeros hidrofílicos está gobernado por muchos factores, tales como:

- La constitución del compuesto orgánico añadido.
- Presencia, distribución y número de grupos disociados (peso equivalente), así como las características de estos grupos y su habilidad para formar complejos insolubles.
- Valencia de los electrolitos
- La ramificación y no ramificación de estos polímeros.
- La presencia de radicales, que enmascaran los grupos funcionales; los cuales junto con los grupos disociados influyen en la enroscadura de las cadenas de polímeros.
- La concentración de los polímeros.

d) Hinchamiento

La habilidad de los coloides hidrofílicos para hincharse está fuertemente relacionada con la solubilidad. El grado de hinchamiento depende de la estructura de la red, del peso molecular, del grado de esterificación, de la presencia de cadenas laterales, del pH y de la presencia de sales en el medio circundante. El poder de hinchamiento de las sustancias pécticas es aumentado por el incremento del peso molecular, el grado de esterificación y la elevación del pH en medio ácido.

Rajni et al, citado por Puerta (1996) precipitó pectinas LM, las cuales retuvieron 50-60g de agua por gramo de pectina y formaron un gel estable.

2.2.4 Caracterización química de la pectina

La calidad de la pectina obtenida depende de la preparación de la materia prima hasta la obtención de la pectina, siendo necesario poner cuidado en todos los procesos para su extracción, sólo esto garantizará que el producto a obtenerse tendrá una calidad satisfactoria. En la caracterización debe considerar las siguientes pruebas (Cuadro N°2.6):

- a) **Contenido de acetil:** La determinación de grupos acetil es más asociadas con pectinas de remolacha azucarera, debido a que el nivel de grupos acetil presente en pectina de manzana y cítricos es bajo y tiene poca influencia sobre la gelación. La presencia de acetil en algunos grupos hidroxilos de la pectina tiene un marcado efecto en la habilidad de gelificación. Según Kirk y Othmer, citado por Puerta (1996), se recomienda un contenido de acetilo de no más de 1%.
- b) **Contenido de ácido galacturónico:** Sirve para definir la pureza del precipitado y comprobar que el producto es una pectina, puesto que este, es un polímero de ácido galacturónico. Si el contenido de ácido galacturónico ($C_6H_{10}O_7$) está por debajo de aprox. 70% indica la presencia de ácido no urónico y si la pectina cítrica tiene más de 74 % de ácido galacturónico es considerado de alta pureza.
- c) **Cenizas totales:** Según Food Chemicals Codex, indicado por Puerta (1996), la pectina no debe tener más de 10 %.

Cuadro N° 2.6.- Especificaciones oficiales de pureza para pectinas comerciales

CARACTERISTICAS	REFERENCIAS		
	FAO (1978)	FCC (1981)	EEC (1978)
Humedad	máx.12%	máx.12%	máx.12%
Cenizas ácido insolubles	máx.1%	máx.1%	máx.1%
Cenizas totales	-	máx.10%	-
Dióxido de Sulfuro	máx.50mg/kg	-	máx.50mg/kg
Metil sulfato de sodio	-	máx.0,1%	-
Metanol, etanol e isopropanol	máx.1%	-	máx.1%
Contenido de nitrógeno pectina amidada	máx.2,5%	-	máx.2,5%
Contenido de nitrógeno pectina	máx.0,5%	-	máx.0,5%
Ácido galacturónico	min. 65%	-	min.65%
Total de anhidrogacturónico en el contenido de pectina	-	min. 70%	-
Grado de Amidación pectina amidada	máx.25%	máx.40%	máx.25%
Grado de esterificación de pectina HM	-	min 50%	-
Grado de esterificación de pectina LM	-	máx.50%	-
Arsénico, ppm	máx.3	máx.3	máx.3
Plomo, ppm	máx. 10	máx. 10	máx. 10
Cobre, ppm	máx.50	-	-
Zinc, ppm	máx.25	-	máx.25
Cobre + Zinc, ppm	-	-	máx.50
Metales pesados	-	máx.40	-

FAO: Food and Agriculture Organization

FCC: Food Chemicals Codex

ECC: Environmental Export Council

Fuente: Puerta, 1996

- d) **Humedad:** Según FAO, Food Chemicals Codex, EEC, la humedad máxima es el 12 %, sólo así se puede asegurar su mejor conservación.
- e) **Ca, Mg, Fe:** Son considerados trazas pero en la categoría de nutritivos. FAO, Food Chemicals Codex, EEC no precia límite, solamente que deben encontrarse en pequeñas cantidades.
- f) **Porcentaje de metoxilos:** los grupos carboxilos de una cadena de pectina se encuentran parcialmente esterificados por radicales metilos (O-CH_3). Una pectina completamente metoxilada alcanzaría un 16.32 % de grupo metoxilos, pero hasta hoy no se ha logrado aislar una de este tipo. La importancia de la metilación, radica en su relación con la propiedad más importante de formar geles, aunque existen discrepancias sobre cuán realmente importantes es su proporción dentro de la estructura de la pectina.
- g) **Grado de esterificación:** Se refiere al porcentaje de grupos carboxil que son esterificados con metanol; este porcentaje puede ser calculado por determinación del contenido de metoxilo. (Joseph et al, citado por Puerta, 1996).

En el cuadro N° 2.7 se muestra la relación de correspondencia entre el porcentaje de metilación y el de esterificación.

Cuadro N° 2.7.- Relación entre el Grado de esterificación y el porcentaje de metoxilos

Grado de esterificación (%)	Contenido de metoxilos (%)
0	0.00
10	1.63
20	3.26
30	4.90
40	6.53
50	8.16
60	9.79
70	11.42
80	13.06
90	14.69
100	16.32

Fuente: Chuquitaype y Chamorro, 2011

El grado de esterificación o de metoxilación es un parámetro importante en la estimación del comportamiento de una pectina en cuanto a su velocidad de dispersión en soluciones acuosas, tiempo de gelificación del gel producido con ella, sensibilidad a cationes polivalentes y su capacidad para formar geles normales o de bajo contenido de sólidos.

- h) **Peso equivalente:** Depende del grado de esterificación y puede ser definido como el número de gramos de ácido poligalacturónico puro por equivalente de grupos carboxilo libres. (Doesburg, citado por Puerta, 1996).

Estas tres últimas características están estrechamente relacionadas con la propiedad más importante de la pectina que es su capacidad de formar geles. El poder de gelificación de las pectinas está también en función del grado de polimerización y su contenido de acetilo.

2.2.5 Caracterización industrial de la pectina

Atendiendo a las propiedades y a los usos de la pectina, su calidad se determina principalmente por la fuerza del gel producido bajo las mismas condiciones constantes; siendo el comúnmente empleado el método SAG desarrollado por el US IFT en 1959, donde se mide la deformación por gravedad de un desmoldador de gel. Con otros métodos se determina la fuerza de rompimiento del gel (Genu, citado por Puerta, 1996).

Se entiende por grado de gelificación para pectinas HM al valor que significa las unidades de peso de azúcar con respecto a una unidad de peso de la pectina, bajo condiciones adecuadas para formar un buen gel, siendo éste sujeto a un examen de textura, resistencia y consistencia (Owens et al, citado por Puerta, 1996).

Para pectina HM las condiciones del gel son las siguientes: pH 3.0 ± 0.05 , 150 unidades de azúcar por unidad de pectina (donde los sólidos solubles son 65% en el gel) y un tiempo de reposo después de formado el gel, entre 20-24 hrs. a temperatura ambiente.

Las pectinas LM pueden ser usadas en geles de pocos sólidos así como en geles de altos sólidos, lo cual dificulta su comparación como grado de gel. En las pectinas LM, la fuerza del gel no sólo es influenciada por el contenido de pectina y el pH, sino también de la relación calcio/pectina; como se sabe la óptima relación calcio/pectina depende mucho de la manera como ha sido preparada la pectina LM y de su contenido de grupos metoxilos.

El método USA-SAG para pectinas HM puede ser usado con algunas modificaciones para graduar las pectinas LM, donde las condiciones del gel pueden ser las

siguientes: pH 3.0, sólidos solubles 31 %, concentración de calcio 25 mg Ca/g de pectina LM estandarizada como si fuera de 100°. Como las condiciones de gelificación para pectinas LM presentan bastantes variaciones, los métodos de grado de gel no son siempre suficientemente relevante para el uso de este tipo de pectinas (Genu, citado por Puerta, 1996).

2.2.6 Clasificación de la pectina

Las pectinas se pueden clasificar en alto metoxilo y bajo metoxilo. Esta clasificación se realiza en base a su grado de metoxilación, siendo este término el número de funciones carboxílicas que han sido metoxiladas en cada 100 grupos de ácido galacturónico. La separación entre pectinas de alto y bajo metoxilo es arbitraria. En términos prácticos, el 7% de metoxilos se considera como el 50% de esterificación y se toma como índice de separación para las pectinas de alto y bajo metoxilo.

a) Pectinas de alto metoxilo

Son aquellas pectinas que contienen entre el 50% y 80% de los grupos carboxílicos esterificados con metoxilo, lo cual le permite ser soluble en agua. Cabe aclarar que si se tuviera una pectina con 100% de esterificación sería más bien una protopectina.

Este tipo de pectinas requieren de grandes cantidades de azúcar (55-85%), un pH bajo (2.0 – 4.5) y elevada temperatura para formar gel con características rígidas y sólidas que los geles de pectinas con bajo metoxilo, pero estas pectinas sufren rápidas degradaciones en medios alcalinos.

b) Pectinas de bajo metoxilo

Las pectinas de bajo metoxilo son aquellas que usualmente contienen de un 25% al 50% de esterificación. Este porcentaje indica que de 100 grupos carboxílicos solamente 50 o menos están esterificados con grupos metoxilo. Si la metoxilación es de 0% sería un ácido péctico.

Este tipo de pectinas pueden formar geles con o sin azúcar, en presencia de iones metálicos polivalentes, como el calcio, y en un amplio rango de pH (2.8 – 6.5), lo cual es una considerable ventaja de uso frente a las pectinas de alto metoxilo, pero las características de gel, como firmeza, plasticidad y resistencia al calor, son inferiores a la de las pectinas de alto metoxilo.

2.2.7 Fuentes de pectina convencionales y no convencionales

Los residuos de manzana y las cortezas de cítricos son las materias primas tradicionalmente usadas para la extracción industrial de pectinas. Ambos materiales contienen altas cantidades de sustancias pécticas y están disponibles en abundancia como residuos de la producción de jugo. Sin embargo, estos frutos producen pectinas ligeramente diferentes, lo cual hace que la una o la otra sea más adecuada para aplicaciones específicas, aunque ambas tienen buen reconocimiento de deseabilidad y propiedades comercialmente atractivas. Los orujos de manzana secos generalmente contienen entre un 15 a 20% de pectina, mientras que las corteza de cítricos secos rinden de un 30 a 35% de pectina.

Existe un interés general en el uso de desperdicios de productos obtenidos de bio-industrias, para minimizar los problemas ambientales y aprovechar las grandes cantidades de biomasa para elaborar productos con valor agregado. Por tanto, la búsqueda de otras fuentes de pectina, ha atraído el interés en los últimos años, aunque con resultados que aún no proveen ningún uso comercial significativo.

Según Muñoz (2011), algunos de las fuentes no convencionales para la obtención de pectinas son las siguientes:

- Orujo de oliva, pulpa de tomate, desperdicio del almidón de papa y semillas de linaza.
- Frutos de mora de castilla (*Rubus glaucus*), de uchuva (*Physalis peruviana*) y residuos de la industrialización de piña (*Ananas comosus*)
- Maracuyá (*Passiflora edulis f. flavicarpa* L.)
- Cáscara de plátano (*Musa AAB*)
- Auyama (*Cucurbita maxima*)
- Cáscara de cocoa (*Theobroma cacao*)
- Remolacha azucarera
- Mango (*Mangifera indica*)
- Guayaba (*Psidium guajava*)
- Soya (*Glycine max*)
- Girasol (*Helianthus annuus*)
- Cáscara de banano (*Musa sapientum*)
- Morera (*Morus alba* L.)
- Melocotón (*Prunus persica*)

2.2.8 Métodos de extracción de pectinas

Existen diferentes técnicas para la extracción de pectina a partir de tejidos vegetales, en las cuales pueden utilizarse procedimientos físico-químicos, o enzimáticos. Con la finalidad de obtener un mayor rendimiento durante la extracción de sustancias pécticas, comúnmente se realizan pre-tratamientos al material vegetal para facilitar la extracción. Es imposible extraer pectina libre del tejido vegetal, porque existe en una forma insoluble conocida como Protopectina.

a) Extracción de pectina asistida por microondas

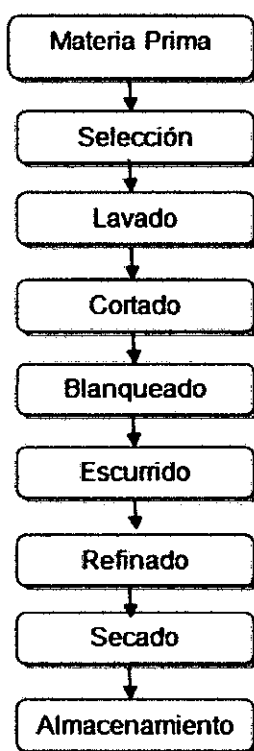
Las condiciones de extracción empleadas en el método convencional provocan la degradación térmica de proteínas, lo cual genera pérdidas de cantidad y calidad de la pectina extraída. Debido a esto, se han establecido nuevos métodos en donde la pectina puede extraerse en menores tiempos y con mejor calidad y rendimiento, como es el caso de la extracción asistida con microondas, que ha mostrado obtener mayor rendimiento y calidad de pectinas en menor tiempo.

Kratchanova *et al.* (Citado por Sánchez Aldana et al, 2011) reportaron que el pre-tratamiento del material vegetal con calentamiento con microondas permitió incrementar el rendimiento de pectina durante su extracción. Los autores sugieren que el efecto del calentamiento con microondas sobre el rendimiento y la calidad de las pectinas extraídas, se debe primero a la desintegración parcial del tejido vegetal y a la hidrólisis de protopectina y en segundo lugar, a la rápida inactivación de enzimas pectolíticas.

b) Extracción de pectina por hidrólisis ácida

La extracción de pectinas por hidrólisis ácida se lleva a cabo a temperaturas cerca de los 90°C por al menos una hora. Frecuentemente las pectinas se extraen y se separan de los desechos de diferentes frutos mediante la acidificación. Comercialmente las pectinas se extraen a altas temperaturas para hidrolizar la protopectina usando ácidos como el sulfúrico, fosfórico, nítrico, clorhídrico o cítrico. Después de la concentración, la pectina se precipita con la adición de alcohol, se seca, se granula y finalmente se tamiza.

Figura. N°2.2.- Procedimiento para el acondicionamiento de materia prima.



Fuente: Véliz (1984)

Figura. N°2.3.- Proceso para la obtención de pectina.



Fuente: Veliz (1984)

2.2.9 Usos y aplicaciones de la pectina

a) Industria alimentaria

Tradicionalmente la pectina es utilizada en la Industria alimentaria como agente gelificante, estabilizante y espesante. Dependiendo del tipo de pectina, dosificación, y de la composición del sistema en el que actúan, se pueden obtener texturas suaves y tixotrópicas hasta firmes y cohesivas. La formación de geles a partir de pectina se puede utilizar para estabilizar alimentos con fases múltiples, ya sea en el producto final o en una fase intermedia del proceso. El efecto espesante de la pectina en términos de aumento de viscosidad es

utilizado principalmente en donde las regulaciones alimentarias previenen el uso de gomas más baratas o donde la imagen de un producto completamente natural es esencial.

Como ejemplos de uso de la pectina en la industria alimentaria esta la elaboración de jaleas, mermeladas y afines, para lo cual la pectina de bajo contenido de metoxilo resulta ser la mejor y además la más económica opción, ya que en la preparación de la jalea bastara un 40 a 45% de sólidos solubles en lugar del 65% acostumbrado si se utilizará una pectina de alta calidad con 7 u 8% de metoxilos; también usan en bebidas y conservas de frutas como restaurador de textura; en mezclas alimenticias y para derivados lácteos como quesos y helados como estabilizador y emulsificante y para la fabricación de caramelos masticables o gomitas.

b) Industria farmacéutica

La base de las aplicaciones farmacéuticas de la pectina, son sus propiedades hidrocoloidales y terapéuticas, además que produce un efecto de aumentar la acción de otros principios activos componentes de la especialidad.

Algunos ejemplos de la utilización de pectina en medicina son en los tratamientos de gastritis y úlceras ya que al ser ingerida cubre las paredes estomacales debido a una especie de película más o menos gelificada y la protege de las hipersecreciones gástricas y biliares. Otros usos farmacéuticos son en la preparación de soluciones de insulina, sustitutos del plasma sanguíneo, tratamiento de heridas y para efecto anti diarreico.

c) Otros usos

Existen otras industrias, como la de cosméticos y productos de aseo, metalmecánica e industria de plásticos, que aplican la pectina en sus productos y/o procesos. Por ejemplo se usan en pastas dentífricas, como absorbentes en jabones, para el endurecimiento del acero u otras aleaciones en los que se usa una solución de pectina de 0.2 a 4% en vez de los aceites debido a que la operación se regula con mayor facilidad cambiando las concentraciones. Se usa también en el recubrimiento de láminas de aluminio o en la industria de plásticos y fabricación de productos espumantes como agentes de clarificación y aglutinantes; en la preparación de sustancias adhesivas en sustitución de la dextrina o para la elaboración de medios de cultivos en microbiología.

Cartaya et al, (mencionado por Cuquitaype y Chamorro 2011) estudiaron las pectinas como posibles absorbentes de metales pesados provenientes de la aplicación sucesiva y masiva de los pesticidas y fertilizantes químicos. Reportaron que se puede usar pectinas o sustancias que contienen pectinas como eficientes adsorbentes de iones metálicos, indicando que la pectina de manzana tiene una gran afinidad por el Co^{2+} , la pectina de remolacha por los iones Cu^{2+} y Cd^{2+} mientras que la pectina de cítrico muestra preferencia por los iones Ni^{2+} , Zn^{2+} y Pb^{2+} .

2.3 ANTECEDENTES

Una nueva alternativa de materia prima para la extracción de pectinas es la cáscara de cacao; para lo cual se han realizado algunas investigaciones que se detallarán a continuación.

La extracción de pectinas en la cáscara de fruto de cacao fue estudiada por Barazarte y otros (2008). Para ello se obtuvieron pectinas de la cáscara de cacao a diferentes condiciones de temperatura y pH, además se evaluaron sus principales características químicas. Para la extracción se utilizó EDTA al 0.5%, pH de 3, 4 y 5, y temperatura de 60°, 75° y 90°C, bajo un diseño factorial de 3^2 , por un tiempo de 60 minutos. Así pues, la pectina extraída a pH 4 y temperatura de 90°C obtuvo el mayor rendimiento de extracción de 3.89g/100g, con un poder gelificante de 422,16 g fuerza, pureza 62,26 g/100g (contenido de Ácido galacturónico). Además se preparó una mermelada con un nivel de agrado promedio de “me gusta moderadamente”. El rendimiento promedio del proceso de producción de pectina de cáscara de cacao presentado en dicho estudio fue inferior al de las fuentes comerciales y no convencionales.

Betancourt y Llano (2009), determinaron el contenido de pectinas en la cáscara y la cascarilla del cacao (subproductos del beneficio del cacao), estableciendo cómo influyen las variables pH, tiempo de hidrólisis y tiempo de cocción sobre las variables respuesta: rendimiento y grado de esterificación. Este análisis se apoyó en un diseño de experimentos factorial 2^K con punto en el medio. Para la extracción de pectina se utilizó ácido clorhídrico al 10%, cuyos niveles para la variable tiempo de cocción (para inhibir la acción de las enzimas pécticas) fue de 20 min y 30 min, tiempo de hidrólisis de 20 min y 40 min, y pH de

1.5 y 2.5. Se encontró que los factores que presentan efectos significativos para la extracción de pectinas fueron tiempo de cocción y tiempo de hidrólisis. Los mejores resultados se obtuvieron con un tiempo de cocción de 25 minutos, tiempo de hidrólisis de 30 minutos y pH 2, obteniendo un 95.45% de Grado de Esterificación y 5.39% de rendimiento. Así mismo, el punto medio mostró los mejores resultados para las variables de respuesta evaluadas, un rendimiento promedio de 4.3% y grado de esterificación de 93.6%. Con los datos del punto medio se realizó un ensayo para la extracción de pectina a partir de la cascarilla de la almendra del cacao.

Vriesmann et al. (2011) realizaron un estudio para determinar las variables que influyen en la extracción de pectinas de cáscara de cacao aplicando la metodología de superficie de respuesta. Las pectinas fueron extraídas con ácido nítrico acuoso (01:25, w/v). En esta investigación se determinó que la extracción con ácido nítrico caliente es adecuada para la recuperación de las pectinas de cáscaras de cacao. Los mejores resultados para rendimiento de extracción se obtienen con pH 3,5 a temperatura de 100 ° C, siendo indiferente el tiempo de extracción. Cuando el pH de la extracción es 1,5, el rendimiento se reduce, pero las pectinas tienen mayor contenido de ácido urónico, que mejora su calidad como polímeros comerciales. Las condiciones elegidas para la extracción (pH 1,5 / 100 ° C / 30 min) proporcionó un rendimiento experimental de 9,0% \pm 0,4% con ácido urónico 66,0%. La pectina fue compuesta por un homogalacturonano altamente metil-esterificado (56,6%) y acetilada (17,1%), presentando algunas inserciones ramnogalacturonano que llevan cadenas laterales que contienen principalmente galactosa.

Debido a la importancia del ácido cítrico, como un aditivo alimentario natural y seguro, resulta más atractivo que los ácidos minerales fuertes utilizados comúnmente para la extracción de pectina, además estudios anteriores han demostrado que éste ácido orgánico es eficaz en la extracción de pectina en términos de rendimiento y propiedades fisicoquímicas.

En relación a esto último Vriesmann et al (2012) realiza una investigación con el objetivo de extraer y caracterizar la pectina en la cáscara de cacao por medio de una hidrólisis ácida utilizando ácido cítrico. Inicialmente, realiza un diseño factorial fraccional 3^{3-1} , para investigar la influencia del pH, temperatura y tiempo de extracción sobre el rendimiento y el contenido de ácido urónico.

El rendimiento de pectina varió desde 3,7 hasta 10,6 g / 100 g de harina de cáscara de cacao. El mayor rendimiento se obtiene cuando las condiciones de extracción fueron a pH 1,0 / 60 min / 100 ° C. El contenido de ácido urónico varió desde 54,4 hasta 68,9 g / 100 g de pectina, con el mayor porcentaje de ácido urónico obtenido cuando las cáscaras de cacao fueron tratadas a pH 3,0 / 90 min / 100 ° C. Además de determina que el pH de la extracción no tenía un efecto significativo sobre el rendimiento o contenido de ácido urónico. Posteriormente, la metodología de superficie de respuesta se aplicó para optimizar el rendimiento por medio del aumento de temperatura y el tiempo. A partir del modelo ajustado, las condiciones de extracción con ácido cítrico acuoso a pH 3,0 por 95 min a 95 ° C proporcionaron un rendimiento de $10,1 \pm 0,3$ g de cáscara/100 g de cáscara seca de cacao. La pectina obtenida es un homogalacturonano LM altamente acetilada (Grado metil-esterificación: 40,3%; Grado de acetilación: 15.9%).

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. MATERIA PRIMA

La materia prima fue obtenida de los cultivos de la Asociación de Pequeños Productores de Cacao de Piura – San Juan de Bigote en la provincia de Morropón, departamento de Piura.

Las mazorcas de cacao fueron cosechadas en estado maduro, coloración amarilla y/o anaranjada con un tamaño entre 14,5 y 16,1 cm de largo, 7,0 a 8,3 cm de ancho y un peso entre 281,3 g a 340,0 g. Pertenecen a la especie *Thebroma cacao L. var. Criollo*. Así mismos, los frutos se cosecharon manualmente, teniendo en cuenta que sean mazorcas sanas, con características similares como color y tamaño para su posterior evaluación como materia prima para la obtención de pectina.

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

A continuación se presenta el listado de los materiales, equipos y reactivos que fueron empleados para el desarrollo de esta investigación:

3.2.1 Materiales

- Agua destilada.
- Buretas de 50 ml

- Cronómetro.
- Embudo Buchner.
- Fiola 250 ml
- Matraz Erlenmeyer 250 ml
- Matraz Kitasato 500 ml
- Mortero de porcelana.
- Papel filtro Whatman N°41
- Pera de decantación 1000 ml
- Pipetas de 5 ml
- Placas Petri.
- Probeta 100 ml
- Tela organza color blanco
- Termómetro.
- Vaso de precipitado 1000 ml
- Vaso de precipitado 250 ml
- Vaso de precipitado 500 ml

3.2.2 Equipos

- Agitador magnético Marca *Ika*.
- Balanza analítica Marca *Sartorius BL 210S*.
- Bomba de vacío Marca *Vacumn Pun*.
- Centrifuga Marca *Dinac*.
- Cocina eléctrica Marca *Famen*.
- Estufa *VWR Scientific 1350GM*.

- Licuadora Marca *Oster*.
- Molino de análisis Marca *Ika*.
- Mufla Marca *Furnace 1400-Termolyne*.
- Potenciómetro Marca *WTW*.
- Refractómetro Marca *Atago*.

3.2.3 Reactivos

- Ácido cítrico anhidro
- Ácido cítrico (grado alimentario).
- Ácido clorhídrico 0.5 N
- Ácido clorhídrico 1 N
- Alcohol etílico 96°
- Alcohol etílico 60°
- Alcohol etílico 90°
- Hidróxido de sodio 0.5 N.
- Hidróxido de sodio 1 N.

3.3 PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE PECTINA DE CÁSCARA DE CACAO

A continuación se describe el proceso experimental para la obtención de pectina a partir de la cáscara de cacao. Este proceso se desarrolló en dos fases: el acondicionamiento de la materia prima y el protocolo para la extracción de pectina. Luego de extraer la pectina se realizó su caracterización en función de sus propiedades fisicoquímicas.

La experimentación se llevó a cabo en el Laboratorio de Control de Calidad perteneciente a la Facultad de Ingeniería Pesquera ubicado en el campus de la Universidad Nacional de Piura.

3.3.1 Manejo y acondicionamiento de la materia prima

a) Selección y limpieza:

La selección se realizó en dos etapas: la primera en el lugar de recolección, en el cual se recogieron los frutos del árbol del cacao teniendo en cuenta la madurez de las mazorcas, cuyo estado se reconoce por la coloración de los mismos. Los frutos verdes se tornan amarillos cuando maduran y los de color rojo adquieren una tonalidad naranja. La segunda selección se llevó a cabo en el laboratorio con el propósito de asegurar una mejor selección, retirando los frutos enfermos o que presenten signos externos de deterioro físico. Así mismo fueron escogidos los frutos de similar tamaño.

“Es importante señalar que la calidad de la materia prima es el primer factor que influye en el rendimiento y calidad de la pectina obtenida” (Acuña, 1990).

b) Lavado y desinfección

Los frutos de cacao seleccionados en el proceso anterior, se sometieron a un proceso de lavado con agua potable, frotando los frutos para quitar las impurezas adheridas a ellos, posteriormente se les sometió a un lavado con agua destilada.

“Es muy importante la calidad del agua. No debe contener metales pesados. Se debe tomar esta precaución respecto a la pureza del agua en la fase preliminar del tratamiento de las materias primas” (Véliz, 1984)

c) Cortado: Quiebra de mazorcas.

Esta operación consiste en partir la mazorca transversalmente en dos mitades y separar manualmente las almendras. Las cáscaras (pericarpio y mesocarpio) se cortaron en trozos pequeños para facilitar la siguiente operación.

d) Blanqueado

El blanqueado, es una operación crítica en el proceso de acondicionamiento de la materia prima. Se realiza con la finalidad de inactivar las enzimas pectinesterasas que catalizan la reacción de desmetoxilación formando metanol y pectinas de menor metoxilo; inactivando también la poligalacturonasa que rompe los enlaces glucosídicos entre

moléculas galacturónicas, despolimerizando la cadena a fracciones más cortas y, finalmente, llegando al monómero de ácido galacturónico (Chasquibol et al, 2008).

En pruebas preliminares se observó que luego de abrir la mazorca se producía un oscurecimiento rápido en la pared interna de la cáscara, tornándose un color marrón oscuro. Por lo tanto se llevó a cabo la etapa de blanqueado a una temperatura entre 85° y 95°C durante 10 minutos.

e) Ecurrido

Mediante el uso de tela organza se separó la cáscara del agua, extrayendo la mayor cantidad de agua posible y lavando el sólido varias veces con agua destilada, efectuándose lavados intermedios con agua destilada tibia (50-60°C) hasta conseguir que la concentración de sólidos solubles en la fase acuosa sea aproximadamente de 0°Brix.

El objeto de sucesivos lavados de las cáscaras con agua destilada fría y tibia, es eliminar sustancias solubles en agua, como glucósidos amargos, pigmentos, azúcares, ácidos, sustancias pécticas solubles y algunos otros componentes solubles en agua presentes en la cáscara. (Braverman, citado por Acuña, 1990).

La remoción de estos componentes facilita la filtración del extracto y se obtiene un producto final más claro y algo más insípido. (Shepherd y Graham, citado por Acuña. 1990). Después de escurrir el agua en el último lavado, el producto fue exprimido manualmente para eliminar la mayor cantidad de agua posible y facilitar el siguiente paso.

f) Refinado

Esta operación se realiza con el propósito de favorecer el secado del producto, para posteriormente almacenarlo hasta el momento de la extracción. Al no contar con una refinadora, se procedió a cortar la cáscara de cacao en láminas delgadas de aproximadamente 0,3 mm de espesor, haciendo uso de un cuchillo.

g) Secado

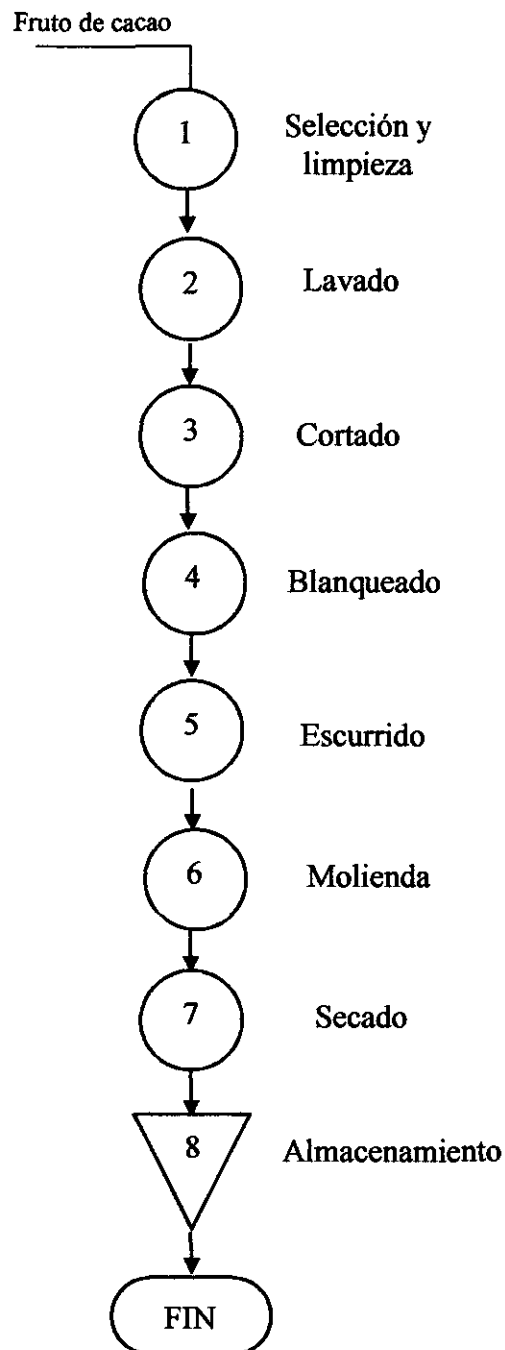
Se procedió a secar el producto, para lo cual se extendió las cáscaras de cacao en bandejas que fueron introducidas en la estufa de aire caliente. El secado se llevó a cabo a una temperatura de 55°C durante 36-48 horas, hasta un contenido de humedad de aproximadamente 6%, humedad apropiada según lo recomendado por Barazarte et al. (2008). La materia prima deshidratada presentó un color marrón-anaranjado, con un sabor y olor característico a cacao y cítrico dulce.

h) Almacenamiento

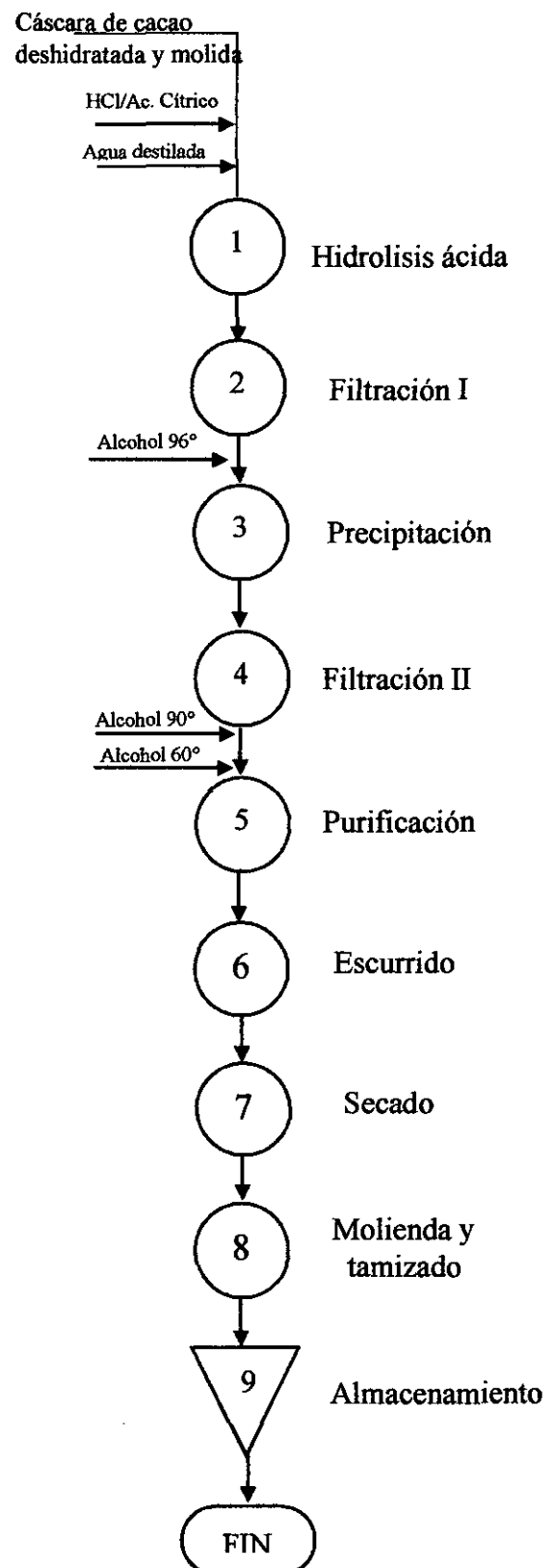
La materia prima acondicionada fue empacada en bolsas de polietileno de alta densidad y almacenadas a una temperatura de 20-25°C, como lo recomienda Acuña (1990). Debido al bajo porcentaje de humedad que presenta la cáscara de cacao deshidratada, el producto se mantuvo en buen estado.

Figura N°3.1.- Diagrama de operaciones del proceso para la obtención de pectina

1. Tratamiento de materia prima



2. Extracción de pectina



Fuente: Elaboración propia.

3.3.2 Proceso de extracción y purificación de pectina

a) Extracción

El proceso es realizado con ácido diluido y adición de calor para convertir la protopectina en pectina soluble. Es la etapa más importante en el proceso de obtención de pectina, pues de ésta depende en gran medida el rendimiento y la calidad del producto.

Se ajustó el pH a los valores establecidos (2 y 3) empleando ácido clorhídrico 1 N y ácido cítrico anhidro (99,7% de pureza) como agente acidulante de las soluciones. La relación materia prima: agua acidulada usada durante la etapa de extracción ácida fue 1:16, es decir, una parte de cáscara por 16 de agua acidulada. Esta relación se mantuvo constante en la fase de extracción de la pectina, ya que autores como Véliz (1984) e Isique (1986), obtuvieron con esta relación el máximo rendimiento de extracción de pectina a partir de diversas materias primas.

Posteriormente la mezcla se sometió a un proceso de hidrólisis ácida a una temperatura de 95°C y a un tiempo de extracción de 60 y 90 minutos (estos valores fueron establecidos en el diseños de experimentos) considerando los valores que ofrecen mejores resultados según la literatura citada⁴.

⁴Barazarte, Sangronis y Unai (2008).

b) Primera filtración

Obtenido el extracto péctico (licor de pectina), se filtró con la finalidad de separar el bagazo de éste. Para lo cual se empleó tela organza dispuesta en doble capa, vertiendo lentamente la mezcla hidrolizada sobre la tela filtro. Terminada la filtración se efectuó un prensado manual para liberar la mayor cantidad de solución péctica retenida en el bagazo. Sin embargo, al notar presencia de sólidos suspendidos se continuó con el filtrado haciendo uso de una bomba de vacío y papel filtro Whatman N°41, hasta lograr un líquido más claro en comparación al color inicial del extracto péctico.

c) Precipitación

Antes de iniciar la precipitación, el extracto péctico y el alcohol fueron enfriados a una temperatura de 8-10°C, tal como lo recomienda Véliz (1984) y Acuña (1990).

Según Véliz (1984), para producir un producto satisfactorio de pectina se recomienda el uso de alcohol, pues logra remover todos los constituyentes solubles tales como la materia prima colorante, los ácidos esenciales, azúcares, etc. Además el etanol presenta ventajas tales como relativo bajo costo, sustancia no tóxica y es posible recuperarlo de la solución por técnicas como la destilación para reutilizarlo, que es como se hace a nivel industrial para pectinas de origen cítrico y de manzana.

La precipitación se logró por adición de alcohol etílico de 96° en proporción 1:1 (v/v) con agitación fuerte y constante por 5-10 minutos. Se deja reposar de 12 a 16 horas hasta observar la formación de un gel consistente.

d) Segunda filtración

Después de precipitada la pectina se procedió a separarla del alcohol y agua para lo cual se usó la tela organza dispuesta en doble capa, dejando en reposo hasta separar la mayor cantidad de líquido.

e) Purificación

Según Ullman, citado por Véliz (1984), el procedimiento más usual para preparar pectina depurada consiste en realizar por repetidas veces lavados con alcohol y/o que contenga ácido clorhídrico, esto permite separar las sustancias de las cenizas, los colorantes y otras sustancias amargas. Además afirma que los lavados con alcohol de 60° son favorables ya que las pectinas contienen algunas impurezas que son solubles en esa concentración pero no en alcohol de 90°.

Por lo tanto para purificar la pectina se hicieron los siguientes lavados: 1 lavado con alcohol acidulado de 90° (pH 6±0.6), 1 lavado con alcohol de 60° y finalmente 1 lavado con alcohol de 90°.

A medida que se iban realizando los lavados el color de la pectina precipitada se fue decolorando. Es importante añadir, que la remoción total de los residuos no urónidos del precipitado péctico, por sucesivos lavados con alcohol es imposible.

f) Escurrido

Luego de la purificación de la pectina se realiza un filtrado para eliminar la mayor cantidad de alcohol procedente de los lavados en la etapa anterior.

g) Secado

Debido a que la temperatura afecta la velocidad de demetilación y las características del producto, no debe secarse la pectina a altas temperaturas, lo recomendable es secar en horno de vacío a temperatura baja de $(30 - 40) ^\circ \text{C}$ y $(10 - 15)$ psi (García, 2009). Sin embargo el laboratorio de Ingeniería Pesquera de la Universidad Nacional de Piura no cuenta con este equipo, por lo tanto se fijará la temperatura de secado en 4°C , y luego llevadas a estufa para eliminar la humedad con una temperatura de $40 \pm 3^\circ\text{C}$ hasta obtener peso constante. Si se coloca el gel de pectina en capas delgadas esta se secará en un tiempo menor. Esto es importante para no someter el producto innecesariamente a calentamiento prolongado durante el secado, de modo que se deteriore por la alta temperatura.

Por lo tanto para el proceso de secado, se procede a extender el coagulo en un recipiente plástico y secarla a una temperatura de 4°C (temperatura de refrigeración) hasta sequedad, luego traspasar a una estufa a temperatura de $40 \pm 3^\circ\text{C}$ por 4 horas.

h) Molienda

Esta operación es necesaria para reducir el tamaño de las partículas y obtener un producto en polvo de buena solubilidad. Se utilizó un pulverizador (Molino de cuchillas cerrado) y se obtuvo un polvo fino de color marrón claro, un poco más claro que el producto antes de ser molido.

i) Almacenamiento

La pectina en polvo fue almacenada en bolsas de polietileno de alta densidad, las que se guardaron en frascos de vidrio cerrados herméticamente. El producto se almacenó a una temperatura de 20-22°C, mientras se realizaban las pruebas de caracterización.

3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

3.4.1 Parámetros a estudiar en el proceso de extracción de pectina

a) Agente de extracción

Variable independiente de la presente investigación. Se estudiará el efecto del Ácido Clorhídrico y el Ácido Cítrico sobre el rendimiento en el proceso de extracción de pectina. Se utilizan estos agentes de extracción en el presente estudio puesto que investigaciones anteriores recomiendan el uso de estos ácidos para la extracción de pectina a partir de la cáscara de cacao obteniendo buenos resultados en el rendimiento y en las características fisicoquímicas de la pectina.

b) pH

Variable independiente de la investigación. Según lo mencionado en el marco referencial, las pectinas disueltas experimentan desesterificación y depolimerización en sistemas acuosos; en medio ácido los valores de pH utilizados para la extracción varían según la materia de la cual se extraen. Por lo tanto se estudia el efecto del pH en sus dos niveles (pH 2 y pH 3) sobre la variable rendimiento. En general valores de pH extremadamente bajos tienden a bajar la calidad de la pectina obtenida cuando se combina con un tratamiento a alta temperatura por tiempos prolongados. (Constenla y Lozano, citado por García, 2009).

c) Tiempo de hidrólisis

Es el tiempo en la etapa de hidrólisis ácida en medio acuoso, es también una variable independiente que se estudiará para determinar su efecto en el rendimiento de pectina obtenida. Los rangos de tiempos son variados dependiendo de la materia prima utilizada para la extracción y el tipo de pectina que se desea obtener. Los tiempos de prueba fueron seleccionados en base a resultados documentados de extracciones de pectina, donde se estima intervalos con buenos resultados para el producto.

d) Rendimiento

Es una variable dependiente de la investigación. Los rendimientos reportados fueron calculados en base seca y se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{gr de pectina obtenidos}}{\text{gr de cáscara de cacao}} \times 100$$

3.4.2 Diseño de experimentos

Se evaluaron dos niveles para cada variable independiente a estudiar: Agente de extracción, pH y tiempo de hidrólisis, con el fin de determinar el efecto de las tres variables sobre el Rendimiento.

Se definieron los niveles de los factores experimentales a controlar, codificándolos para su posterior manejo en el programa estadístico. Los valores de tiempo de hidrólisis, pH y agente de extracción para los distintos niveles que se evaluaron se muestran en el cuadro 3.1.

Cuadro 3.1.- Factores y niveles del diseño de experimentos

FACTORES	Nivel -1	Nivel 1
A: Tiempo de Hidrólisis	60 min	90 min
B: pH	2	3
C: Agente de Extracción	Ac. Cítrico	HCl

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados obtenidos se analizaron utilizando el software Minitab 17, usando un Diseño Factorial 2^k con dos repeticiones, empleando un nivel de significancia del 95%. El diseño creado se muestra en el cuadro 3.2 en la cual se estimará la variable respuesta Rendimiento como función de cada factor experimental.

Cuadro N° 3.2.- Diseño Factorial 2³: Características del experimento

Corrida	X1 : A	X2: B	X3: C	Descripción
1	-1	-1	-1	60' - pH 2 - Ac. Cítrico
2	1	-1	-1	90' - pH 2 - Ac. Cítrico
3	-1	1	-1	60' - pH 3 - Ac. Cítrico
4	1	1	-1	90' - pH 3 - Ac. Cítrico
5	-1	-1	1	60' - pH 2 - HCl
6	1	-1	1	90' - pH 2 - HCl
7	-1	1	1	60' - pH 3 - HCl
8	1	1	1	90' - pH 3 - HCl
9	-1	-1	-1	60' - pH 2 - Ac. Cítrico
10	1	-1	-1	90' - pH 2 - Ac. Cítrico
11	-1	1	-1	60' - pH 3 - Ac. Cítrico
12	1	1	-1	90' - pH 3 - Ac. Cítrico
13	-1	-1	1	60' - pH 2 - HCl
14	1	-1	1	90' - pH 2 - HCl
15	-1	1	1	60' - pH 3 - HCl
16	1	1	1	90' - pH 3 - HCl

Xi : Variable de investigación

Fuente: Elaboración propia

Los resultados se analizaron estadísticamente bajo los siguientes parámetros:

- **ANVA:** para este modelo se realizó con el fin de establecer la significancia de los efectos sobre las variables de respuesta.

- **Coefficiente de determinación, R²:** Este coeficiente compara la variabilidad explicada por el modelo frente a la variación total, cuantificada a través de la suma de cuadrados (SC). De esta forma se determina el porcentaje de variabilidad

presente en los datos y que es explicado por el modelo. En general, para fines de predicción se recomienda un coeficiente de determinación ajustado de al menos un 70%.

- **Diagrama de Pareto:** Se logra al estimar los efectos graficándolos, para así visualizar cuáles tienen un mayor impacto sobre la variable de respuesta. En el gráfico aparece una franja vertical roja que fija el límite de significancia (valor-P menor que 0.05) para los efectos calculados, por lo que cualquier efecto situado por debajo de este límite, no posee una diferencia significativa que incida en la variable de respuesta.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y SENSORIALES DE LA MATERIA PRIMA

Las propiedades físico-químicas de la pectina dependen principalmente de la fuente de la planta y las condiciones seleccionadas para su aislamiento y purificación. Por lo tanto, el acondicionamiento de la materia prima es un paso importante en el proceso de recuperación de la pectina.

Las investigaciones realizadas por Mollea et al (2007), Vriesmann (2012), Chan y Choo (2013) para la obtención de pectina a partir de la cáscara de cacao, utilizan cáscaras picadas en el proceso de extracción. Sin embargo, la información sobre el efecto de los métodos de procesamiento en el rendimiento y la calidad de la pectina utilizando la cáscara de cacao deshidratada y molida, no están disponibles. Por lo tanto, el principal objetivo del presente estudio fue investigar el efecto de las condiciones de extracción: tiempo, pH y agente extractante en los rendimientos y evaluar la calidad de las pectinas obtenidas a partir de cáscaras de cacao deshidratada y molida.

Las características de la materia prima acondicionada utilizada para las corridas experimentales son las detalladas en el cuadro N° 4.1.

**Cuadro N° 4.1.- Características químicas y sensoriales de la cáscara de cacao
deshidratada**

Humedad	Cenizas	Extracto etéreo	Proteína	Fibra	Color	Olor
6.12%	12.44%	2.67%	4.06%	14.57%	Marrón claro	A granos de cacao

Fuente: Elaboración propia.

El contenido de humedad fue de 6.12%, esto significa un rendimiento de 17.30% de cáscara seca con respecto a la cáscara fresca, es decir, que para obtener 1 Kg de cáscara seca se necesita 5.78 Kg de cáscara fresca de cacao. La humedad alcanzada en el producto seco, es un valor aproximado del señalado por Barazarte et al (2008), quien recomienda una humedad del 6% en cáscara seca de cacao para la obtención de pectina.

4.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con los datos experimentales obtenidos en cada uno de los puntos de prueba determinados por el diseño experimental, se realizó un análisis estadístico aplicando el análisis de varianza y que permite medir el nivel de significancia de las variables independientes respecto a la variable respuesta.

4.2.1 Justificación de la temperatura utilizada en la hidrólisis ácida

En el presente trabajo de investigación se utilizó una temperatura de extracción de 95°C y este valor se mantuvo constante para todas las corridas experimentales. Cabe resaltar que la temperatura de la hidrólisis ácida, en investigaciones preliminares, fue una variable de estudio estadísticamente significativa para el rendimiento de pectina de cáscara de cacao, por lo tanto el valor ha sido seleccionado en base a la literatura citada (Vriesman et al, 2012; Chan y Choo, 2013).

El efecto de la temperatura fue demostrado por Vriesmann et al. (2012), donde el aumento de temperatura a 95°C aumentó significativamente el rendimiento de pectina de cáscara de cacao por el ácido cítrico. El ácido sometido a altas temperaturas ayuda a solubilizar la pectina y otros componentes pécticos presentes en la pared celular (protopectina), por lo tanto aumenta el rendimiento. Una baja temperatura puede ser insuficiente para permitir la hidrólisis de la protopectina (la forma insoluble de pectina) por los ácidos, obteniendo así un rendimiento menor de pectina. Además las investigaciones realizadas por Chan y Choo (2013), demuestran que el aumento de temperatura de extracción de 50 a 95 ° C usando ácido cítrico y ácido clorhídrico, aumenta significativamente el rendimiento de la pectina.

4.2.2 Influencia del pH, tiempo y agente de extracción en el rendimiento de pectina

En base a los resultados obtenidos, el rendimiento se correlaciona directamente con un aumento en el tiempo de hidrólisis mediante la extracción con ácido cítrico. Los altos rendimientos de la pectina extraída obtenidos en un tiempo de 90 minutos usando este tipo de ácido, pueden atribuirse al mayor rompimiento de los enlaces presentes en la protopectina generado por el aumento del tiempo en la hidrólisis ácida.

Así mismo, el efecto de la diferencia de tiempo observada en el rendimiento de pectina extraída por el ácido cítrico a pH 2 y pH 3 demuestra que el rendimiento de pectina extraída por el ácido cítrico es dependiente del pH. Esto está de acuerdo con el estudio de Yapó (2009) que el rendimiento de pectina de cáscara de fruta de la pasión amarilla fue mayor cuando se extrae a pH inferior utilizando ácido cítrico.

Cuadro N° 4.2.- Análisis de varianza para rendimiento de pectina con un nivel de significancia de 5 %.

Fuente	GL	SC	MC	Valor F	Valor p
Modelo	7	43.9634	6.2805	9.19	0.003
Lineal	3	5.8753	1.9584	2.86	0.104
Tiempo	1	4.6225	4.6225	6.76	0.032
pH	1	1.1772	1.1772	1.72	0.226
Agente	1	0.0756	0.0756	0.11	0.748
Interacciones de 2 términos	3	34.9196	11.6399	17.03	0.001
tiempo*pH	1	13.5424	13.5424	19.81	0.002
tiempo*Agente	1	20.6116	20.6116	30.15	0.001
pH*Agente	1	0.7656	0.7656	1.12	0.321
Interacciones de 3 términos	1	3.1684	3.1684	4.63	0.063
T°*pH*Agente	1	3.1684	3.1684	4.63	0.063
Error	8	5.4692	0.6836		
Total	15	49.4326			

Fuente: Elaboración propia.

R-cuadrado = 88.94 %

R-cuadrado (ajustado para los grados de libertad) = 79.26 %

S = 0.826831

El cuadro N° 4.2 del análisis de varianza reparte la variabilidad de la respuesta rendimiento en segmentos separados para cada uno de los efectos, luego prueba la significancia estadística de cada efecto por comparación de la media cuadrada contra una estimación del error experimental. Para el caso, un efecto principal y dos interacciones tienen valores $p < 0.05$, indicando que son significativamente diferentes de cero para un nivel de confianza de 95.0%.

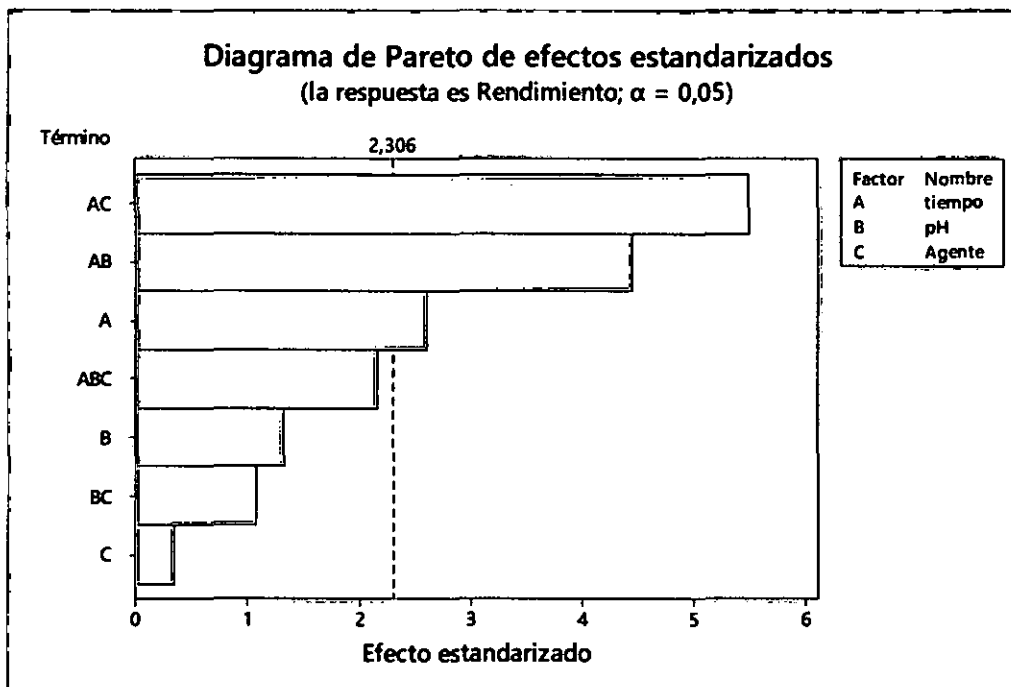
R-cuadrado indica que el modelo explica el 88.94 % de la variabilidad en el Rendimiento de pectina. El estadístico R-cuadrado ajustado, que es más conveniente para comparar modelos con diferentes números de variables independientes, es 79.26%. El error estándar de la estimación muestra que la desviación estándar de los residuales es de 0.826831.

La estimación del efecto de los parámetros en orden decreciente de importancia se representa mediante un gráfico de Pareto (Figura N° 4.1). En éste, se encuentran las contribuciones individuales y las interacciones entre efectos.

El gráfico de Pareto muestra cada uno de los efectos estimados en orden decreciente de magnitud, la longitud de cada barra es proporcional al efecto estandarizado, que es el efecto estimado dividido por su error estándar. Esto es equivalente al cálculo de un estadístico t para cada efecto. La línea vertical se utiliza para juzgar cuales efectos son significativos. Cualquier barra que se prolonga más allá de esa línea corresponde a efectos que son estadísticamente significativos al nivel de confianza de 95.0%.

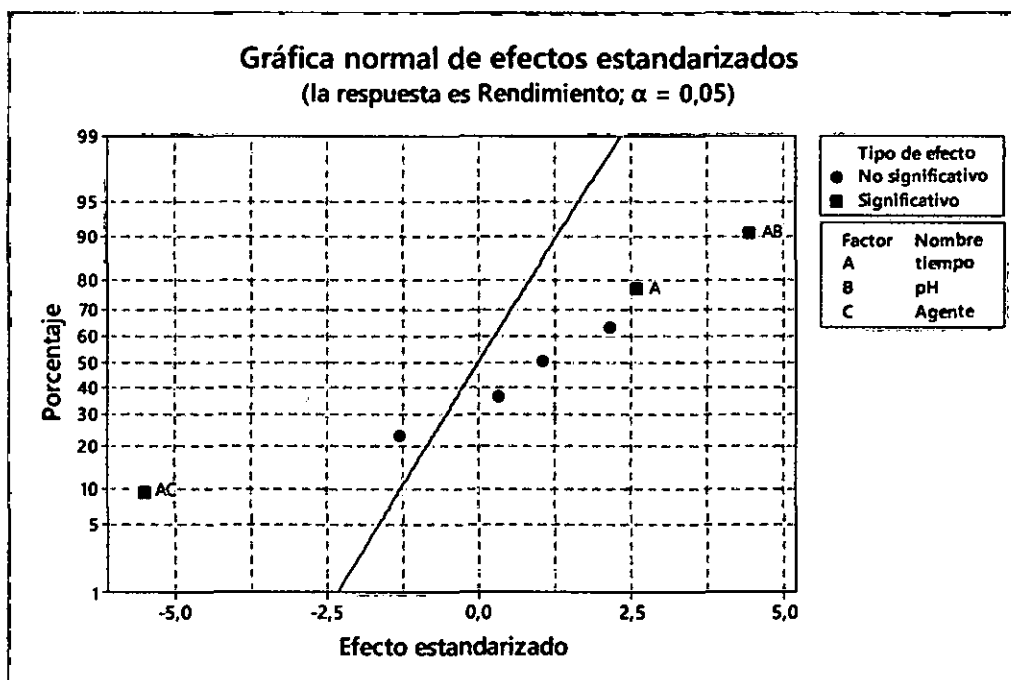
En la figura N° 4.1 se observa que los efectos de interacción AC (tiempo – agente), AB (tiempo – pH) y el efecto principal tiempo, fueron altamente significativos para la variable respuesta rendimiento.

Figura N°4.1.- Gráfico de Pareto estandarizado para el rendimiento de pectina con un nivel de significancia de 5 %.



Fuente: Elaboración propia

Figura N° 4.2.- Diagrama de efectos normales para el Rendimiento.



Fuente: Elaboración propia

En la figura N° 4.2 se observa que los efectos A, AC y AB se encuentran alejados de la línea de referencia o efecto cero, lo que corrobora lo observado en la figura N° 4.1. Así mismo, la interacción tiempo - Agente presenta un efecto negativo, lo cual indica que al pasar del menor al mayor nivel del factor, la respuesta decrece; mientras que el factor tiempo y la interacción tiempo - pH presenta un efecto positivo, en el cual al pasar del menor al mayor nivel, la respuesta se incrementa. Los demás efectos B, C, BC y ABC no tienen ningún efecto significativo sobre la variable respuesta, es decir, independientemente del valor que tomen cada uno de ellos, el Rendimiento no varía.

El modelo estadístico contiene 3 efectos principales y 4 interacciones de dos factores, como puede observarse algunos de esos términos no son significativos estadísticamente. Al construir modelos empíricos basados únicamente en datos observados, es importante mantenerlos tan simple como sea posible, ya que son más fáciles de interpretar y de extrapolarlos a otras combinaciones de factores experimentales. Según Gutiérrez y De la Vara (mencionado por García, 2009) al seguir este principio de simplicidad, pueden eliminarse efectos insignificantes del modelo ajustado según los criterios siguientes:

- Remover efectos insignificantes de dos factores (u otros efectos de segundo orden).
- Remover efectos principales insignificantes que no están incluidos en interacciones significativas.

A partir de los resultados del cuadro N° 4.1 de ANOVA, y del gráfico de Pareto se eliminan los efectos BC y ABC. Al realizar el nuevo análisis de varianza se obtuvieron los resultados que se presentan en el cuadro N° 4.3

**Cuadro N° 4.3.- Análisis de Varianza de efectos más importantes sobre el
rendimiento de pectina con un nivel de significancia de 5 %**

Fuente	GL	SC	MC	Valor F	Valor p
Modelo	5	40.0293	8.0059	8.51	0.002
Lineal	3	5.8754	1.9585	2.08	0.166
Tiempo	1	4.6225	4.6225	4.92	0.051
pH	1	1.1772	1.1772	1.25	0.289
Agente	1	0.0756	0.0756	0.08	0.783
Interacciones de 2 términos	2	34.1540	17.077	18.16	0.000
tiempo*pH	1	13.5424	13.5424	14.4	0.004
tiempo*Agente	1	20.6116	20.6116	21.92	0.001
Error	10	9.4032	0.9403		

Fuente: Elaboración propia.

R-cuadrado = 80.98 %

R-cuadrado (ajustado para los grados de libertad) = 71.47 %

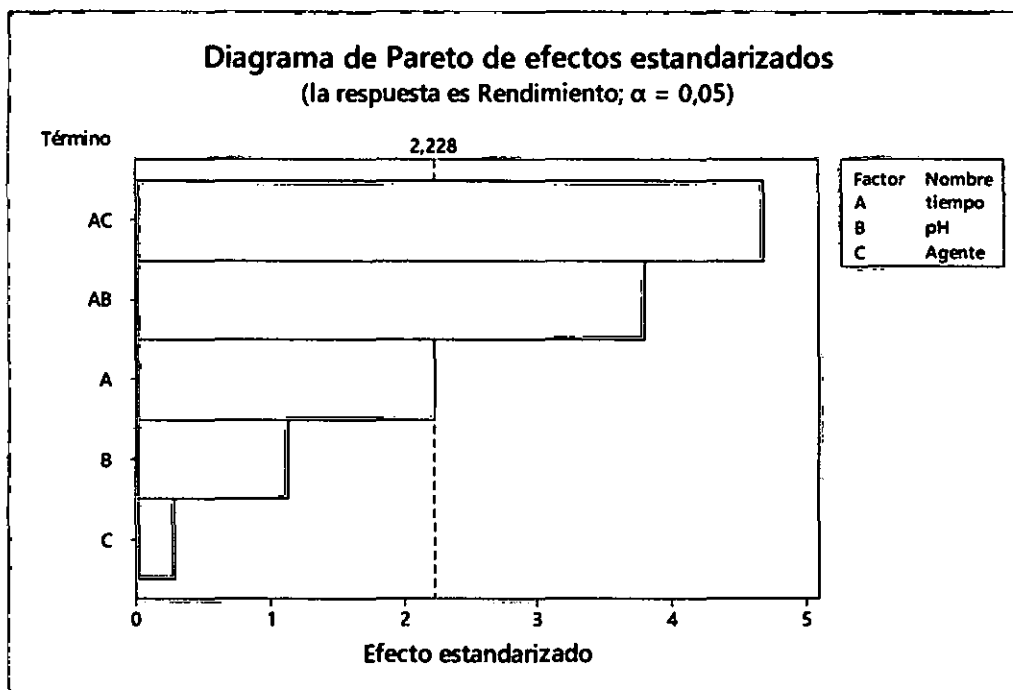
S = 0.969702

Según se observa en el cuadro N° 4.3 los efectos que tienen un valor $p < 0.05$ son la interacción tiempo - Agente y pH - Agente, indicando que son significativamente diferentes de cero para un nivel de confianza de 95.0 %

El modelo explica el 80.98 % de la variabilidad en el Rendimiento de pectina. El estadístico R-cuadrado ajustado es 79.26%. El error estándar de la estimación muestra que la desviación estándar de los residuales es de 0.969702

El diagrama de Pareto muestra los efectos más importantes según el nuevo análisis y es presentado en la siguiente figura:

Figura N°4.3.- Diagrama de Pareto estandarizado para los efectos más importantes sobre el rendimiento de pectina con un nivel de significancia de 5 %.



Fuente: Elaboración propia

El cuadro N° 4.4 muestra los coeficientes de regresión estimados que se ajustan a los datos de rendimiento en función de los factores que se consideran significativos estadísticamente.

Cuadro N° 4.4.- Coeficientes de regresión para rendimiento de pectina.

Coeficiente	Estimado
Constante	28.98
A	-0.2708
B	-9.74
C	5.74
AB	0.1227
AC	-0.0757

Fuente: Elaboración propia

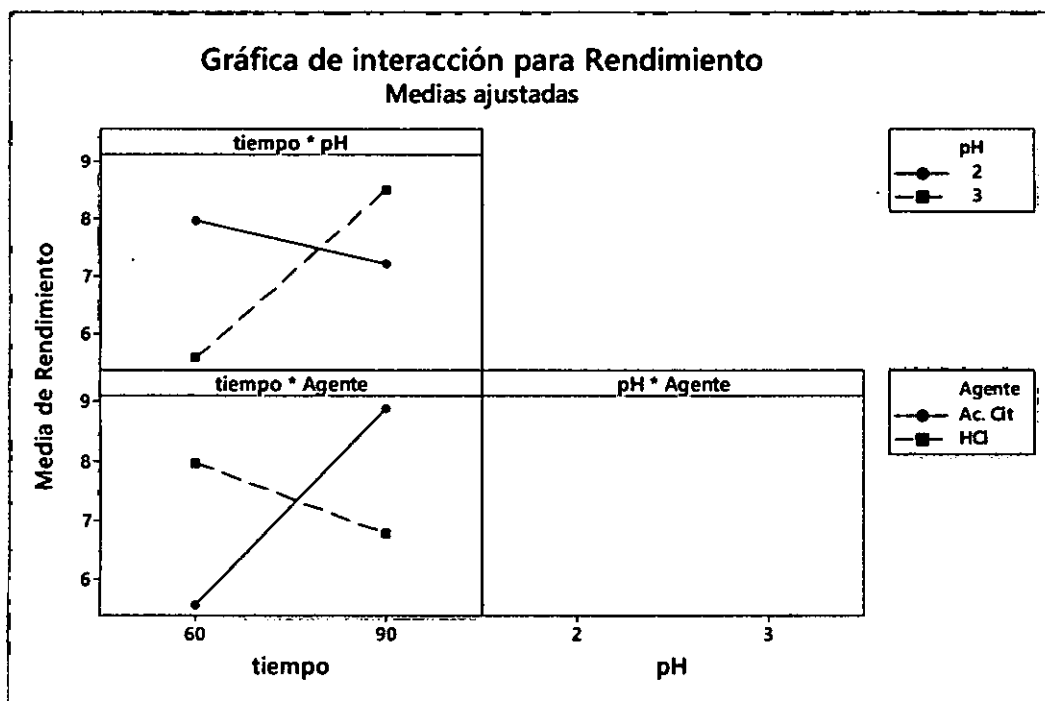
Y la ecuación del modelo es:

$$\text{Rendimiento} = 28,98 - 0,2708 \text{ tiempo} - 9,74 \text{ pH} + 5,74 \text{ Agente} + 0,1227 \text{ tiempo} * \text{pH} - 0,0757 \text{ tiempo} * \text{Agente}$$

Donde el rendimiento está en g pectina/100 g de materia seca y el tiempo en minutos.

Cuando existen interacciones significativas entre los factores experimentales, el gráfico de efectos principales no revela cómo interactúan éstas variables. Por lo tanto es necesario el análisis a través de un gráfico de interacciones como se muestra en la figura N°4.4. Un par de líneas se grafica para cada interacción, correspondiente a la respuesta predicha cuando un factor se varía desde su valor bajo hasta su valor alto, a cada nivel del otro factor.

Figura 4.4.- Gráfico de interacción entre los efectos principales sobre el rendimiento de pectina.



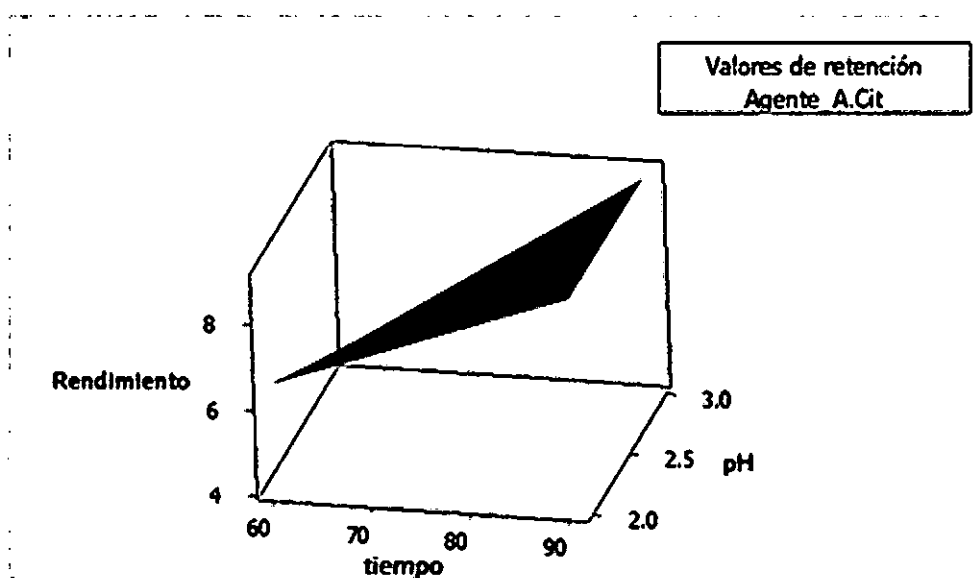
Fuente: Elaboración propia

La interacción de los factores estudiados indica que el tiempo de hidrólisis ácida empleando como agente extractante ácido cítrico, es directamente proporcional al rendimiento; por el contrario el tiempo de extracción utilizando ácido clorhídrico es inversamente proporcional al rendimiento de pectina de cáscara de cacao.

Además la Figura N° 4.4 demuestra que el tiempo es directamente proporcional a la variable respuesta empleando un pH 3, es decir, el rendimiento aumenta en promedio cuando el tiempo y el pH están en su nivel más alto.

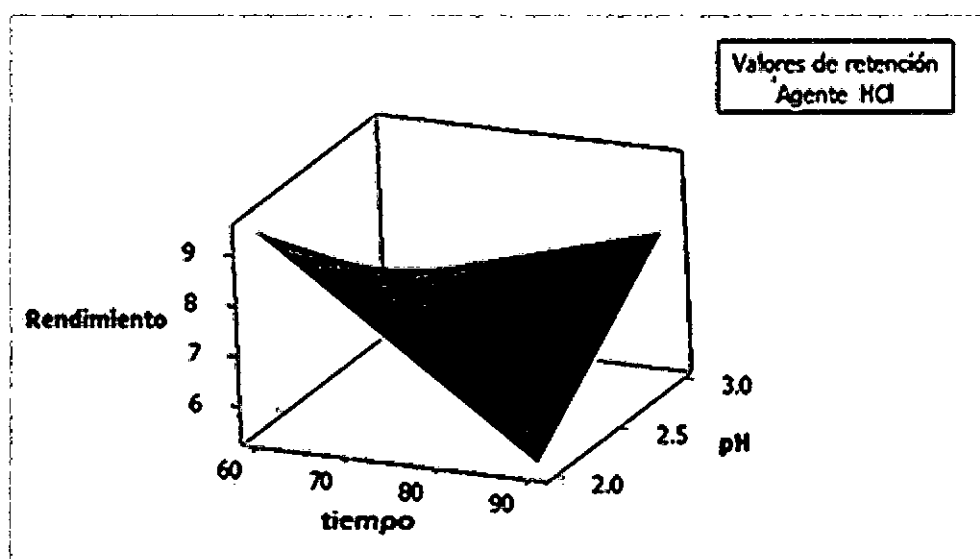
La altura de la superficie de respuesta mostrados en la figura N° 4.5 y 4.6 representan el valor del rendimiento como función del tiempo y el pH, cuando se emplea ácido cítrico y ácido clorhídrico respectivamente. Los contornos de la superficie mostrada en la figura N° 4.5 y 4.6 son presentados en el Anexo N° 08.

Figura N° 4.5.- Gráfico de superficie para Rendimiento vs. pH, tiempo; utilizando ácido cítrico.



Fuente: Elaboración propia

Figura N° 4.6.- Gráfico de superficie para Rendimiento vs. pH, tiempo; utilizando ácido clorhídrico.



Fuente: Elaboración propia

Según los resultados obtenidos y presentados en el cuadro N° 4.5, la extracción con ácido cítrico a pH 2 y tiempo de 90 minutos obtiene similares rendimientos al utilizar ácido clorhídrico a pH 2 y tiempo de 60 minutos; estos resultados indican que el ácido cítrico puede extraer la protopectina que se extrae con los ácidos minerales, y por lo tanto puede ser una alternativa al uso de ácido clorhídrico en la extracción de pectina de cáscara de cacao.

Cuadro N° 4.5.- Resultados para el rendimiento de pectina.

Corrida Experimental	Tiempo	pH	Agente	% Rendimiento
1	60	2	A.C	6.15
2	90	2	A.C	9.41
3	60	3	A.C	4.45
4	90	3	A.C	8.78
5	60	2	HCl	8.84
6	90	2	HCl	5.73
7	60	3	HCl	5.33
8	90	3	HCl	7.44
9	60	2	A.C	6.92
10	90	2	A.C	8.45
11	60	3	A.C	4.76
12	90	3	A.C	9.02
13	60	2	HCl	9.95
14	90	2	HCl	5.21
15	60	3	HCl	7.79
16	90	3	HCl	8.75

Fuente: Elaboración propia

En esta investigación se ha demostrado que ambos tipos de ácidos proporcionan altos rendimientos de pectina, por lo tanto, el ácido cítrico puede ser una alternativa al uso de ácido clorhídrico en la extracción de pectina de cáscara de cacao deshidratada y molida de variedad “criollo”.

4.3 CARACTERIZACIÓN DE LA PECTINA DE CÁSCARA DE CACAO

La caracterización de la pectina obtenida de cáscara de cacao deshidratada se realizó en base a las condiciones de extracción que mostraron el mayor rendimiento cuando se utiliza el ácido cítrico, y el procedimiento de caracterización química es mostrado en el anexo N°04. La calidad de la pectina extraída se evaluó mediante la determinación de su contenido de humedad, ácido galacturónico, grupos metoxilo, solubilidad y acidez.

La pectina obtenida es un polvo fino, inodoro, color marrón claro, esto debido a la presencia de compuestos fenólicos y taninos en la cáscara de cacao.

Para determinar el tipo de pectina se determinó el grado de metoxilación, que se basa en el análisis cuantitativo del álcali requerido para la saponificación de un éster. El contenido de ácido galacturónico es esencial para determinar la pureza de la pectina. El cuadro N°4.6 presenta los resultados promedio de los análisis efectuados a la pectina.

Cuadro N°4.6.- Resultados de la caracterización química de pectina de cáscara de cacao

Prueba	Resultado promedio
Grado de metoxilación	71.93
Ácido galacturónico	90.36
Acidez	3.00
Humedad	10.2 %
Cenizas	7.7 %
Solubilidad	Positiva

Fuente: Elaboración propia.

Con base en el grado de metoxilación 71.93% la pectina de cáscara de cacao es de alto metoxilo y el valor de ácido galacturónico de 90.36% indica que es de alta pureza.

Con el fin de determinar el grado de gelificación expresado como la cantidad de azúcar (sacarosa) que gelificará una parte de pectina para obtener una firmeza dada bajo condiciones establecidas de pH = 3.2 – 3.5; de 65 a 70 °Brix y pectina dentro de los límites de 0.2 a 1.5%; se procedió a preparar los geles con una escala entre 0.5 a 1.4 g de pectina, bajo las condiciones mencionadas. Posteriormente se evaluó las características de cada uno de ellos en forma visual para calcular el grado de gelificación. El cuadro N°4.7 muestra los resultados de la evaluación aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Grado de Gelificación} = \frac{\text{gr. de sacarosa}}{\text{gr. de pectina usada}}$$

Cuadro N°4.7.- Evaluación del Grado de gelificación de la pectina obtenida.

Muestra	Sacarosa (gr)	Pectina (gr)	°Gelificación
M1	100	0.5	200.0
M2	100	0.8	125.0
M3	100	0.9	111.1
M4	100	1.0	100.0
M5	100	1.2	83.3
M6	100	1.4	71.4

Fuente: Elaboración propia.

El gel que presenta las características más apropiadas es la muestra M3, además en esta investigación se demuestra una gelificación rápida lo cual permite que en los productos industriales donde se utiliza pectina se desarrolle una gelificación uniforme, con mayor rapidez, evitando la sinéresis. Por lo tanto, el grado de gelificación de la pectina de cáscara de cacao es de 111°.

4.4 ELABORACIÓN DE MERMELADA PARA EVALUAR LA PECTINA DE CÁSCARA DE CACAO EN BASE A LA PECTINA COMERCIAL

Luego de realizar la caracterización de la pectina de cáscara de cacao y con la finalidad de evaluar su capacidad de gelificación en la elaboración de un producto alimentario, se procedió a preparar una mermelada puesto que sus características físico químicas demuestran que es una pectina de alto metoxilo y tiene capacidad para formar geles en presencia de azúcar y ácido.

El cuadro N° 4.8 muestra la comparación entre las pectinas que serán utilizadas para la elaboración de las mermeladas de prueba, con la finalidad de determinar la cantidad de pectina a utilizar en cada caso. Para la elaboración de las mermeladas se utilizó la pectina de cáscara de cacao con base a la pectina comercial obtenida de cítricos y se utilizó la ficha técnica del producto y los datos de la caracterización fisicoquímica mostrados en el ítem 4.3.

Cuadro N°4.8.- Comparación de propiedades de pectina comercial vs. pectina de cáscara de cacao

Propiedades	Grado de metoxilación	Clasificación	pH de solución al 1%	% cenizas	Color	Sabor	Olores
Pectina tipo 105 “rapid set”	67 – 75%	Pectina HM	2.9 – 3.6	10%	Crema	Ninguno	Ninguno
Pectina cáscara de cacao	71.93 %	Pectina HM	3.0	7.7%	Marrón claro	Ninguno	Ninguno

Fuente: Elaboración Propia

Debido al color pardo observado en los geles cuando éstos se elaboraron para analizar el grado de gelificación, y con la finalidad de evitar la aparición de colores no deseados en la matriz donde se utilice, su uso es recomendable en productos con colores oscuros, por tal motivo se optó por elaborar una mermelada de papaya con maracuyá para enmascarar el color de la pectina.

El proceso de elaboración de mermelada de papaya con maracuyá es presentado en el anexo N° 05 y 06.

4.5 EVALUACIÓN SENSORIAL DE LA MERMELADA PREPARADA

Para la evaluación sensorial se estableció un rango de edad de los panelistas entre 18 a 25 años y un horario adecuado (10:00 am). Se aseguró que los evaluadores no hubieran fumado por lo menos 30 minutos antes de la prueba, que no usaran perfume, que no comieran ni probaran alimentos. Se redactaron y completaron los formularios para las pruebas con instrucciones claras y precisas que no inducirían al error.

A los evaluadores se les pidió anticipadamente su participación, explicándoles previamente las características generales de la evaluación y la responsabilidad que ellos tenían como jueces.

Los 15 panelistas evaluaron el grado de satisfacción de los atributos color, olor, sabor y textura de las dos muestras de mermelada debidamente codificadas.

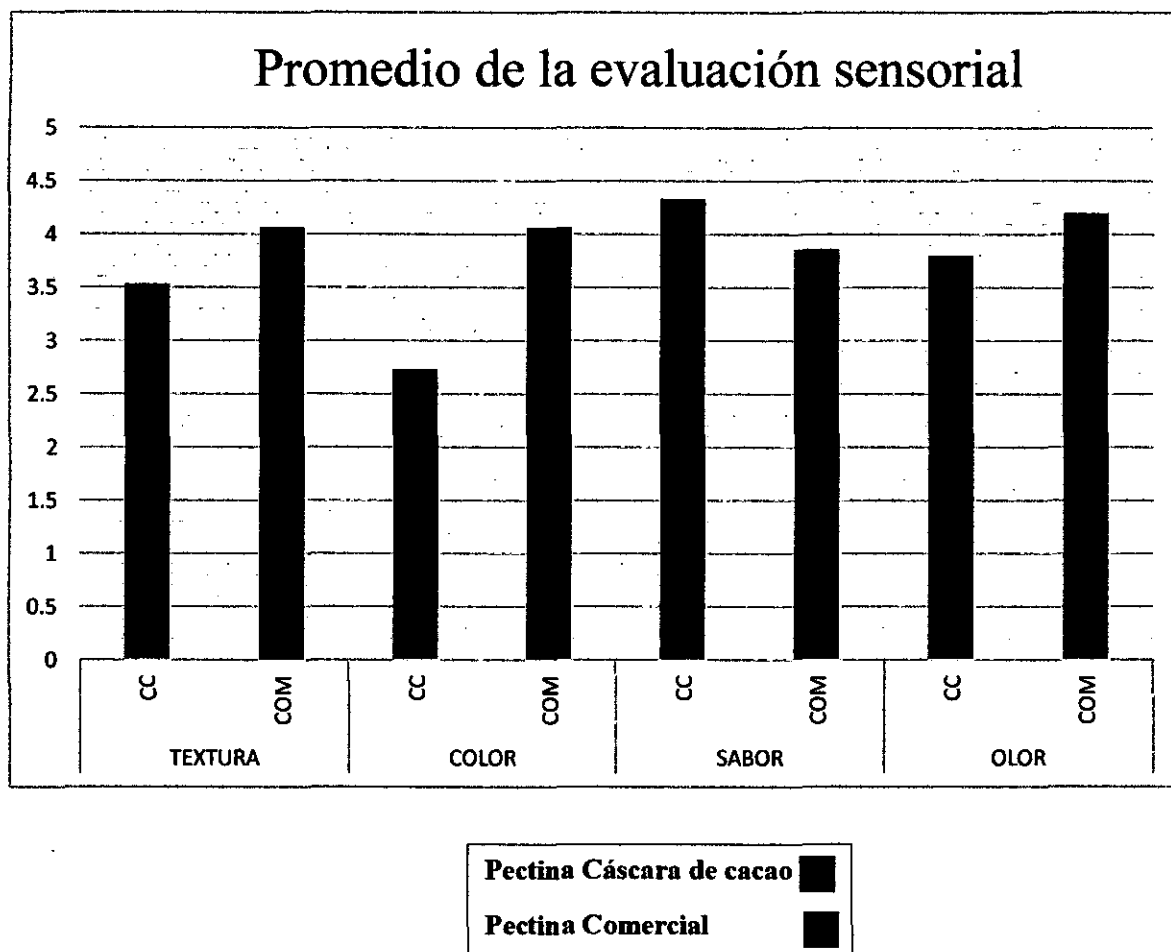
Los resultados obtenidos de la evaluación sensorial fueron analizados mediante el análisis de varianza, aplicando el diseño estadístico de bloques completos. Este análisis permite comparar las muestras, para determinar si el panel de degustación encuentra diferencias significativas entre ellas.

Según los resultados obtenidos y mostrados en la figura N° 4.7 y anexo N° 10, en la evaluación de los atributos olor y textura, la mermelada preparada con pectina comercial presentó una mayor preferencia entre los jueces que la mermelada hecha con pectina de cáscara de cacao; sin embargo, según el análisis de varianza presentado en el anexo N° 11 no existe diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los dos productos, puesto que el valor de “F” es menor que el valor crítico de “F”. Es necesario aclarar que la consistencia o textura de las mermeladas no se midió de manera objetiva sino solamente de manera afectiva a través de la prueba sensorial de escala hedónica empleando la capacidad de gelatinización de ambas pectinas evaluadas.

Para el atributo sabor tampoco se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) entre ambos productos; sin embargo, la mermelada elaborada con pectina de cáscara de cacao presenta mayor aceptación entre los jueces.

En cambio, en la evaluación del color si existe diferencia significativa entre ambas mermeladas, puesto que el “F” calculado es mayor al valor crítico de “F”, siendo la mermelada preparada con pectina comercial la de mayor aceptación entre los panelistas. En la figura N° 4.7 se grafican los niveles de preferencia para ambas mermeladas.

Figura N° 4.7.- Promedio de los atributos evaluados en el análisis sensorial.



Fuente: Elaboración Propia.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

- Se logró caracterizar la cáscara de cacao deshidratada utilizada como materia prima para la extracción de pectina, obteniendo valores de humedad del 6,12%; este resultado se encuentra cercano al 6%, un porcentaje de humedad necesario para realizar el proceso de extracción con el método de hidrólisis ácida.
- El mayor rendimiento obtenido de las corridas experimentales fue de 9,95 g/100g, bajo las condiciones: HCl a pH 2 y tiempo de 60 min.; seguido de un rendimiento de 9,41 g/100g aplicando ácido cítrico a pH 2, tiempo de 90 min. Esto demuestra que al utilizar ácido cítrico en la etapa de hidrólisis ácida se puede obtener similares rendimientos que al utilizar ácido clorhídrico.
- La interacción de las variables tiempo-agente de extracción y tiempo-pH poseen un efecto significativo sobre la variable respuesta. Es decir, cuando se utiliza Ac. Cítrico y se aumenta el tiempo de hidrólisis de 60 min a 90 min, aumenta el rendimiento. Por el contrario, el rendimiento de pectina tiene su valor más alto cuando se utiliza HCl y el tiempo disminuye de 90 a 60 min. Así mismo, el rendimiento de pectina aumenta cuando el tiempo es de 90 min y el pH es 3.

- La pectina de cáscara de cacao obtenida es una pectina de alto metoxilo puesto que presenta un grado de metoxilación de 71,93%, y esta característica química determina su capacidad para formar geles en presencia de azúcar y ácido, y su aplicación se orienta principalmente a la elaboración de mermeladas y jaleas.
- Según los resultados del análisis sensorial aplicado para la evaluación de la textura entre la mermelada elaborada con pectina de cáscara de cacao y la mermelada elaborada con pectina comercial, demuestra que no existe diferencia significativa entre ambos productos, según los resultados del análisis de varianza. Sin embargo, sí existe diferencia significativa en la evaluación del color, siendo la mermelada utilizando pectina comercial la de mayor aceptación por parte de los evaluadores.

CAPÍTULO VI

RECOMENDACIONES

- Las pectinas extraídas a partir de la cáscara de cacao reportan rendimientos bajos en comparación con las pectinas extraídas de frutos cítricos. Por lo tanto al ser la cáscara de cacao una fuente de pectinas con características químicas de gran interés para la industria alimentaria, es necesario optimizar los parámetros de extracción para aumentar el rendimiento sin que se vean afectadas sus principales características fisicoquímicas.
- Determinar el contenido de los compuestos fenólicos responsables del color pardo a la pectina y aplicar un proceso de decoloración para disminuir la intensidad del color o en todo caso tratar de eliminarlos.
- Estudiar algún método o equipo que permita la recuperación de los alcoholes utilizados para la precipitación y los lavados, pues este insumo origina que los costos en el proceso de obtención de pectina sean altos.
- Evaluar la viabilidad económica y técnica para la instalación de una planta productora de pectina en la provincia de Morropón, departamento de Piura o en los departamentos de mayor producción de cacao a nivel nacional.
- En la evaluación de las variables independientes frente a la variable respuesta Rendimiento, utilizando el Diseño Factorial 2³, se recomienda utilizar mayor número de réplicas por cada combinación de factores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Baena, L. y García, N. (2012). *Obtención y caracterización de fibra dietaria a partir de cascarillas de las semillas tostadas de Theobroma cacao L. de una industria chocolatera colombiana*. Memoria para optar el Título de Ingeniero Químico Industrial, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Colombia.

Barazarte, H., Sangronis, E. y Unai, E. (2008). *La cáscara de cacao (Theobroma cacao L.): una posible fuente comercial de pectinas*. Archivos latinoamericanos de nutrición. Caracas, Venezuela.

Betancourt, L. y Llano, J. (2009). *Extracción de pectinas a partir de los subproductos del beneficio del cacao*. Memoria para optar el Título de Ingeniero de Procesos, Universidad EAFIT, Medellín, Colombia.

Calderón, E. y Matos, A. (2011). *Fuentes para la extracción de pectina y su aplicación en la industria*. Dirección General de Investigación, Universidad Peruana Unión. Disponible en: <http://papiros.upeu.edu.pe>

Chan, S. y Choo, W. (2013). *Effect of extraction conditions on the yield and chemical properties of pectin from cocoa husks*. Revista Digital ScienceDirect. Recuperado el 20 de junio de 2015: <http://www.sciencedirect.com>

Chasquibol, N., Arroyo, B. y Morales, J. (2008). *Extracción y caracterización de pectinas obtenidas a partir de frutos de la biodiversidad peruana*. Universidad de Lima, Lima, Perú.

Gamboa, M. (2009). *Aprovechamiento de los residuos obtenidos del proceso de despulpado del mango (*Mangifera indica* L.), de las variedades Smith, Tommy Atkins, Haden y Bocado como materias primas para la obtención de pectinas*. Tesis de Magister, Universidad de Oriente, Puerto La Cruz, Anzoátegui, Venezuela.

García, J. (2009). *Evaluación del rendimiento de extracción de pectina en aguas mieles del beneficiado de café procedentes de desmucilaginado mecánico*. Memoria para optar el Título de Ingeniero Químico, Universidad de El Salvador, San Salvador, República de El Salvador.

Herrera, N. (1988). *Estudio de prefactibilidad para la producción de pectinas a partir de los desechos sólidos de la industria de aceite esencial de limón*. Memoria para optar el Título de Ingeniero Industrial, Universidad Nacional de Piura, Piura, Perú.

ICCO. International Cocoa Organization. London. Recuperado el 3 de Octubre de 2013: <http://www.icco.org>

IPPA. International Pectin Producers Association. Recuperado el 01 Diciembre, 2013: <http://www.ippa.info>

Larrauri, J., Borroto, B. y Fernandez, C. (1994). *Obtención de polvos con fines nutricionales a partir de cáscaras de mandarinas (Citrus mobilis cv. Dancy)*. Instituto de investigaciones agropecuarias, Chile.

López, V. y Vélez, A. (2013). *Ácido cítrico y clorhídrico en las características físico-químicas de pectina obtenida de albedo de Maracuyá (Passiflora edulis)*. Memoria para optar el Título de Ingeniero Agroindustrial, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Calceta, Manabí, Ecuador.

Luzuriaga, D. (2012). *Extracción y aprovechamiento del mucílago de cacao (Theobroma cacao L.) como materia prima en la elaboración de vino*. Memoria para optar el Título de Ingeniera de Alimentos. Universidad Tecnológica Equinoccial, Quito, Ecuador.

Ministerio de Agricultura (2010). Resumen Ejecutivo Cacao. Lima, Perú. Recuperado el 10 de Octubre en: <http://agroaldia.minag.gob.pe>

Ministerio de Agricultura (2012). Manual técnico del cultivo del cacao blanco en Piura. Dirección General de Competitividad Agraria, Dirección de Información Agraria, Piura, Perú.

Ministerio de Agricultura (2013). Boletín del Sistema Integrado de Estadísticas Agrarias. Recuperado el 15 de setiembre en: <http://www.minag.gob.pe>

Muñoz, F. (2011). *Extracción y caracterización de la pectina obtenida a partir del fruto de dos ecotipos de cocona (Solanum sessiliflorum), en diferentes grados de madurez; a nivel de planta piloto*. Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

M & O Consulting. (2008). Caracterización del potencial genético del Cacao en el Perú. Informe de consultoría: 24/2007/PNRC/Lote 2. M&O Consulting SAC. Lima.

Puerta, A. (1996). *Extracción de pectina LM de la cáscara de limón (Citrus aurantifolia) por el método electrolítico*. Memoria para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.

Quevedo, R. (1993). *Extracción de pectina a partir de desecho industrial de limón (Citrus aurantifolia) por electrodecantación*. Memoria para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.

Sánchez Aldana et al. (2011). *Moléculas pécticas: Extracción y su potencial aplicación como empaque*. Revista Digital Tecnociencia Chihuahua. Vol. V, 76-82. Recuperado el 20 de Octubre de 2013:<http://tecnociencia.uach.mx>

Tuchán, C. (2004). *Extraction and characterization of pectins from cocoa husks: A preliminary study*. Revista Digital ScienceDirect. Recuperado el 26 de octubre de 2013: <http://www.sciencedirect.com>

Véliz, N. (1984). ***Extracción de pectina del Níspero y su caracterización (Eriobotrya japonica)***. Memoria para optar al Título de Ingeniero en Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.

Virk, B. y Sogi, D. (2004). **Extraction and characterization of pectin from apple (*Malus pumila*. Cv Amri) peel waste. International Journal of Food Properties**. Revista Digital ScienceDirect. Recuperado el 10 de Enero de 2015: <http://www.sciencedirect.com>

Vriesmann, L; Teófilo, R; Petkowicz, C (2011). ***Optimization of nitric acid-mediated extraction of pectin from cacao pod husks (Theobroma cacao L.) using response surface methodology***. Revista Digital ScienceDirect. Recuperado el 15 de julio de 2014: <http://www.sciencedirect.com>

Vriesmann, L; Teófilo, R; Petkowicz, C. (2012). ***Extraction and characterization of pectin from cacao pod husks (Theobroma cacao L.) with citric acid***. Revista Digital ScienceDirect. Recuperado el 15 de julio de 2014: <http://www.sciencedirect.com>

Yapo, B. (2009). ***Biochemical characteristics and gelling capacity of pectin from yellow passion fruit rind as affected by acid extractant nature***. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Recuperado el 20 de junio de 2015: <http://www.sciencedirect.com>

ANEXO 01

Aplicaciones de la pectina en los alimentos

TIPO	TÍPICO USO	CANTIDAD APROX. (%) EN PRODUCTO FINAL	FACTORES IMPORTANTES
Pectina (HM) de alto metoxil (grado 150°)	Jaleas, compotas, conservas	0,1 - 0,8	Sólidos solubles para jaleas 65%, compotas 60%; pH 2,8-3,2
	Piezas de confiteria	0,85 - 1,25	Sólidos solubles 80-82%; necesita sal buferada pH 3,4- 3,7; igual peso de fructosa y sucrosa
	Jalcas cascras	3 onzas/6-8 vasos	Mezclas de dextrosa, pectina, fruta ácida, cerca de 10°
	Espesante para frutas de bajas calorías, jarabe, bebidas	hasta 0,5	Necesario cuidado en preparar solución cuando el azúcar no es incluido como agente espesante
	Emulsiones sabo- rizadas, ensaladas, postres	2 - 3 de fase acuosa	Mejor para contenidos de aceites 15-20% y superiores
	Cremas batidas, glaceados, maltcados de leche espesantes		Estos y otros especiales usos requiere específicas instruc-ciones
Pectinas (LM) de bajo metoxil	Ensalada y postres (geles) a) Imitación de sabor y color (para consumo casero)	0,8 -1,5	Ca(H ₂ PO ₄) ₂ .H ₂ O, 8-16% peso de pectina; algunas veces citrato de sodio y ácido de fruta se adhiere
	b)Jugo de frutas y vegetales (geles enlatados)	1,0 - 1,8	CaCl ₂ .2H ₂ O, 6-14% peso de pectina pH 3,6-3,8; pectina en solución antes de aderir sal de calcio.
	Geles de leche y budines	0,8 -1,5	No necesita sal de calcio
	Geles de fruta de bajas calorías parecidos a compotas para uso dietético	0,8 - 1,5	Necesita correcto balance de pectina y calcio; pocas cantidades deseables de glicerol y sorbitol
	Fresas congeladas	0,1 - 0,15 del peso de fresa	Más efectivo cuando jarabe azucarado se adiere en las fresas para empacarlas.
	Geles de fruta y fresa usados en helados.	0,8 - 1,5	40-50% de azúcar; ácido de fruta algunas veces sal de calcio.

Fuente: Puerta, 1996

ANEXO 02

Informe de ensayos químicos para cáscara de cacao deshidratada y molida



UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA
FACULTAD DE INGENIERÍA PESQUERA
LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD



U.N.P.

Pág. 1 / 1

INFORME DE ENSAYO N° 014 - 2015

SOLICITANTE	:	KAREN MILAOROS HIZAMA YAMURAQUE
DIRECCIÓN	:	LA LEGUA - PIURA
PRODUCTO DECLARADO	:	CASCARA DE CACAO DESHIDRATADA Y MOLIDA
PROYECTO DE TESIS	:	OBTENCION Y CARACTERIZACION DE PECTINA A PARTIR DE LA
	:	CASCARA DE CACAO (<i>Theobroma cacao L.</i>)
FECHA DE RECEPCIÓN	:	17-02-2015
FECHA DE INICIO DEL ENSAYO	:	17-02-2015
FECHA DE TÉRMINO DEL ENSAYO	:	19-01-2015

RESULTADOS DE LOS ENSAYOS QUIMICOS

ENSAYOS	UNIDADES	RESULTADOS	METODO
Humedad	%	6.12	NTP 209.264:2013
Cenizas	%	12.44	NTP 209.262:2013
Grasa o extracto Etéreo	%	2.67	NTP 209.263:2013
Proteína	%	4.06	NTP 209.265:2013
Fibra	%	14.57	NTP 205.003:1980
Carbohidratos	%	60.14	Por diferencia
K Cal	%	279.14	Por calculo

INFORME DE ENSAYO EMITIDO EN BASE A RESULTADOS OBTENIDOS EN NUESTRO LABORATORIO, VALIDO ÚNICAMENTE PARA LA MUESTRA PROPORCIONADA
NO DEBE SER UTILIZADO COMO CERTIFICADO DE CONFORMIDAD. PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL Y/O PARCIAL DEL PRESENTE DOCUMENTO
ESTE DOCUMENTO ES VALIDO SOLO EN ORIGINAL

Piura, 20 de Febrero del 2015

INFORME DE ENSAYO, COD. RBOT, VERSIÓN: 01
PÁG. 06 DE 06



LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD
Ing. Fidel Gonzales Mechoto
C.I.R. N° 63453
I.F.F.F.

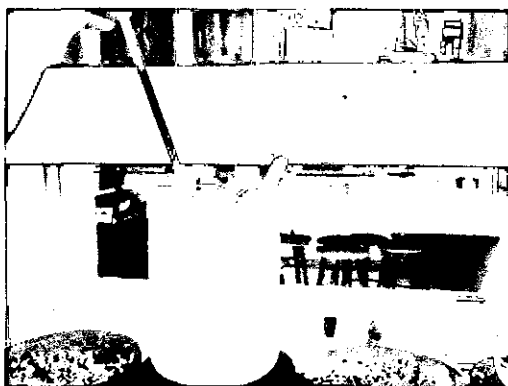
DUC IN ALTUM "REMAR MAR ADENTRO" (Lucas 5,4)
Urb. Miraflores - Campus Universitario S/N - Castilla - Piura
Teléfonos: (073)-285251, anexo 2013 - (073) - 285203
labocontrol@unp.edu.pe
atencioncliente.labo@unp.edu.pe

ANEXO 03

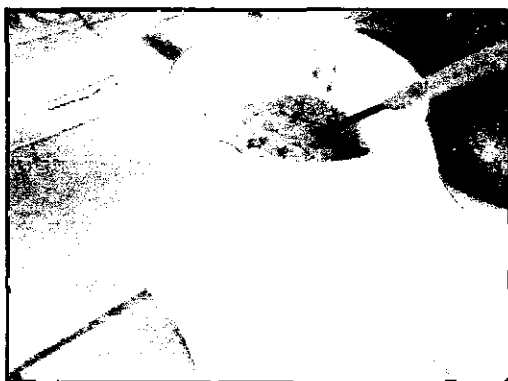
Imágenes del proceso de extracción de pectina a partir de cáscara de cacao



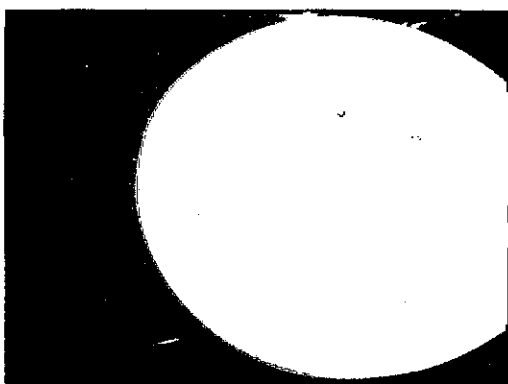
Adición del agente acidulante, llevando a pH 2 o 3, según lo establecido



Proceso de hidrólisis ácida, a temperatura de 95°C y en constante agitación.



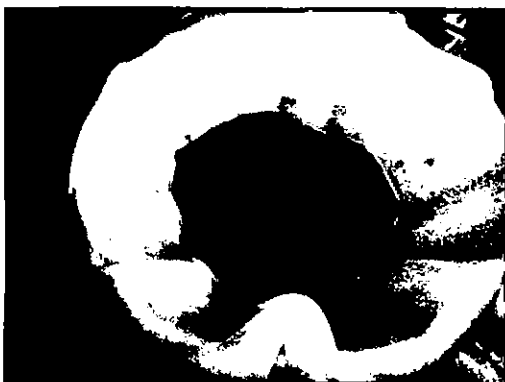
Primera filtración con tela organza para extraer el bagazo de la cáscara de cacao



Seguido se utiliza un equipo de filtración al vacío para separar sólidos presentes en el extracto



Formación del gel de pectina al
agregar etanol



Filtración para separar el gel de
la solución acuosa.



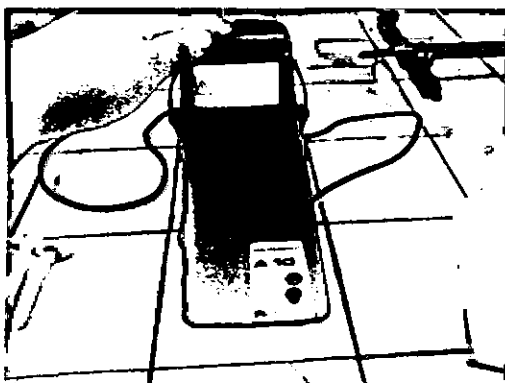
Proceso de purificación de la
pectina, al realizar los lavados
con etanol.



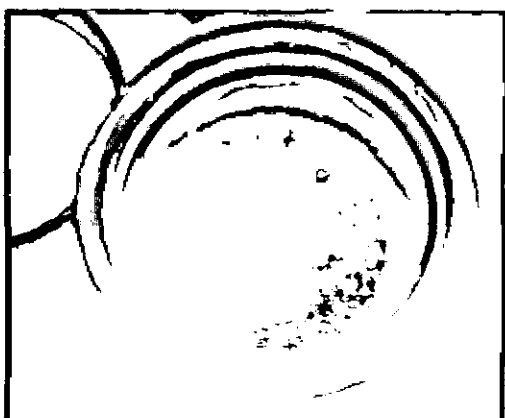
Luego de filtrar se coloca en un
recipiente para ser llevado a la
estufa.



Pectina seca luego de retirar de la estufa. Se procede a pesar para determinar el rendimiento.



Molienda de la pectina para obtener un polvo fino.



Pectina guardada en frasco seco y hermético.

ANEXO 04

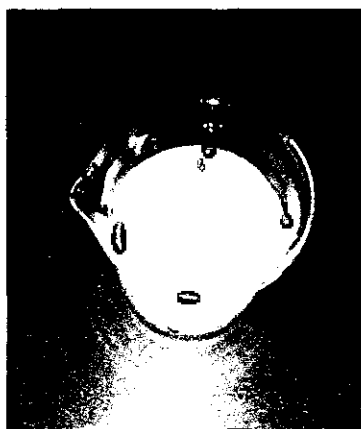
Determinaciones realizadas a la pectina de cáscara de cacao

1. Métodos de identificación (García, 2009)

- a) A una solución (1 en 100), agregar un volumen igual de alcohol hasta que se forme un precipitado gelatinoso traslucido (diferencia con las gomas)



- b) A 5 ml de una solución 1 en 100 de la muestra de pectina, agregar 1 ml de hidróxido de sodio 2 N y dejar reposar por 15 minutos a temperatura ambiente. Al gel obtenido, acidificarlo con ácido clorhídrico 3 N y agitar, se formara un precipitado gelatinoso voluminoso e incoloro, que por ebullición se torna blanco y flocculento, indicando presencia de ácido péctico



2. Peso equivalente (Owens et al, citado por García, 2009)

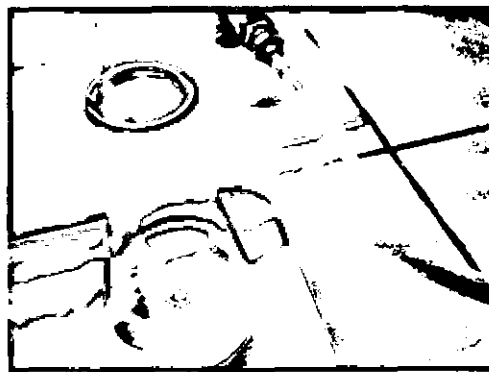
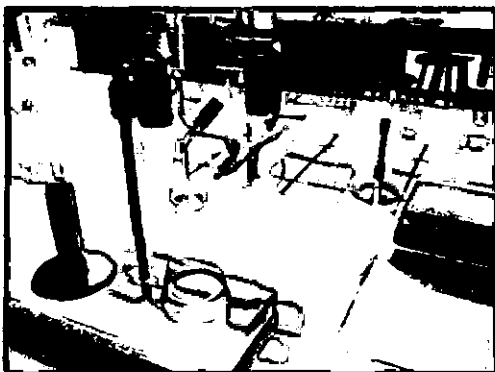
Pesa 0.5 gr. de sustancia pética (libre de amonio y cenizas) en un matraz Erlenmeyer de 250 ml y humedecer con 5 ml de etanol. Agregar 100 ml de agua libre de dióxido de carbono, tapar y agitar hasta la pectina está completamente disuelta. Agregar 5 gotas de rojo de fenol y titular con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N, hasta el cambio de color del indicador (pH 7.5), este cambio debe persistir por lo menos 30 seg. Esta solución neutralizada puede usarse para la determinación de metoxilo.

$$\text{Peso equivalente} = \frac{\text{peso de la muestra} \times 1000}{\text{ml de álcali} \times \text{Normalidad}}$$

3. Contenido de metoxilo (Owens et al, citado por García, 2009)

A la solución neutra procedente del peso equivalente, agregar exactamente 25 ml de hidróxido de sodio 0.25 N. Tapar, agitar vigorosamente y dejar reposar 30 minutos. Luego agregar exactamente 25 ml de ácido clorhídrico 0.25 N y agitar hasta que desaparezca el color rosado. Agregar 3 gotas de fenolftaleína, y valorar con solución de hidróxido de sodio 0.1 N hasta el mismo punto final como anteriormente, anotar el valor de saponificación. Cada mililitro de hidróxido de sodio consumido es equivalente a 15.52 mg de grupos metoxilos (-OCH₃).

$$\% \text{Metoxilos} = \frac{\text{ml de álcali} \times \text{Normalidad del álcali} \times 3,1}{\text{peso de muestra}}$$



4. Porcentaje de ácido galacturónico (García, 2009)

Cada mililitro de solución de hidróxido de sodio utilizado en la valoración total (Valoración inicial + valoración de saponificación en los grupos metoxilos) es equivalente a 97.07 mg de ácido galacturónico ($C_6H_{10}O_7$).

5. Humedad (García, 2009)

Pesar 0.5 g de pectina en polvo. Poner a secar en horno con ventilación a 100°C por 4 horas.

Dejar enfriar en desecador por 20 minutos, pesar y llevar a peso constante. El porcentaje de humedad se calcula de la siguiente manera:

$$\% \text{Humedad} = \frac{\text{peso de muestra} - \text{peso pectina seca}}{\text{peso de muestra}} \times 100$$



6. Cenizas (García, 2009)

La pectina debe ser calcinada en una mufla a 600 grados centígrados durante 4 horas.

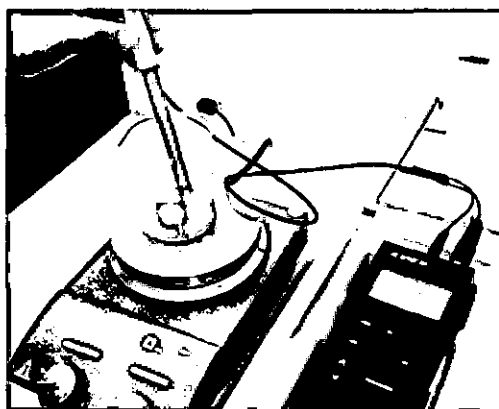


7. Solubilidad (García, 2009)

La pectina debe ser completamente soluble en agua caliente a una concentración de 2 a 5%, y soluble en agua fría a una concentración de 0.5% formando una solución coloidal opalescente.

8. Acidez (García, 2009)

En 100ml de agua a 80°C esparcir 0.5g de pectina lentamente en la superficie del agua, mientras se agita a velocidad alta la solución con agitador magnético. Determinar el pH de esta solución (concentración 0.5%) con pH metro.



ANEXO 05

Descripción del proceso de elaboración de mermelada

Recepción y selección de la fruta

Al buscarse la calidad del producto final, se debe de asegurar que la materia prima con la que se prepara ésta, tenga algunas características mínimas, como grado de madurez, color, aroma, entre otros. Así, se seleccionan las mejores frutas, descartando aquellas que presenten daños físicos o biológicos.

Lavado

Las frutas deben limpiarse antes de pasar a las siguientes etapas del proceso. Primero se pasa las frutas por un baño de agua ligeramente caliente, el cual permite eliminar la tierra o polvo que pueda estar adherida a la fruta. Seguidamente se sumergen las frutas en una solución de agua con hipoclorito al 1%, esto permite la eliminación de cualquier agente microbiano que se encuentre en la superficie de la fruta.

Despulpado

En este proceso manual se procede a separar las cáscaras y las pepas de la pulpa. Como resultado del proceso se obtiene la pulpa de la fruta.

Pesado de ingredientes y medición de pH

Una vez que se tiene la pulpa de la fruta, se procede a realizar el pesado de la misma.

Esta parte es de gran importancia, ya que dependiendo de la cantidad de fruta que se procesa se calcula la cantidad de los otros ingredientes que se deben adicionar durante las demás etapas. Además, se realiza la medición del pH de la pulpa, ya que para poder iniciar el

proceso la fruta debe estar entre 3 y 3.2 de pH. De estar por encima del rango, se debe adicionar ácido cítrico en la siguiente relación: 1 gramo de ácido cítrico por cada 500 gramos de pulpa.

Calentado

Se calienta la pulpa hasta una temperatura entre los 30° y 50°C durante 15 minutos. El aumento de temperatura ayudará a evaporar el agua que se encuentra en la fruta, aumentando la concentración de sólidos solubles, es decir aumenta el °Brix de la pulpa. Al final del proceso se deberá alcanzar un promedio entre 16° y 18 °Brix.

Concentrado

Luego se procede a agregar la mitad de azúcar necesaria para el proceso, la razón de esto es que cuando se agrega azúcar a la mezcla se produce ósmosis entre la pulpa y el azúcar, esta última penetra en la pulpa expulsando agua, esta agua que se expulsa se evapora por acción del calor. Al echar azúcar en dos etapas se logra evaporar mayor cantidad de agua, lo que se traduce en un ahorro de energía. En el Concentrado I se debe llevar la mermelada hasta 65°C, mientras que en el Concentrado II se debe de agregar el azúcar con la pectina, ácido cítrico y el conservante (Sorbato de potasio) homogéneamente mezclados, llevando la mezcla hasta los 80°C.

Inspección final

Se realiza una inspección final para comprobar que el color, aroma y consistencia del producto final sean los adecuados.

Envasado







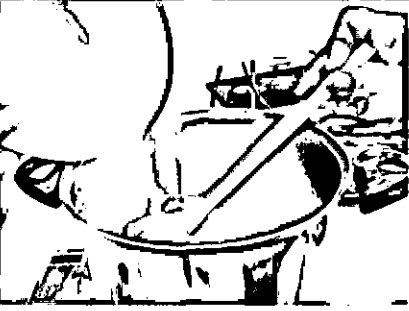



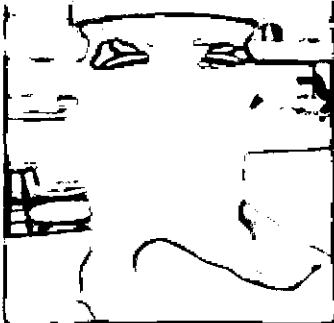
En este proceso se coloca la mermelada en su envase final. Además, como parte del proceso se realiza el sellado del envase con la tapa metálica.

Enfriado

En este proceso se colocan los frascos en agua fría con la finalidad de disminuir la temperatura de la mermelada y que se genere vacío en el frasco, lo cual activa el sello de seguridad de la tapa.

Almacenamiento

Los frascos serán almacenados en un ambiente bien ventilado, con bajo nivel de humedad y semi-oscuro. Una vez almacenado, el producto no deberá moverse durante las 24 horas siguientes, ya que en ese lapso se completa el proceso de gelificación.

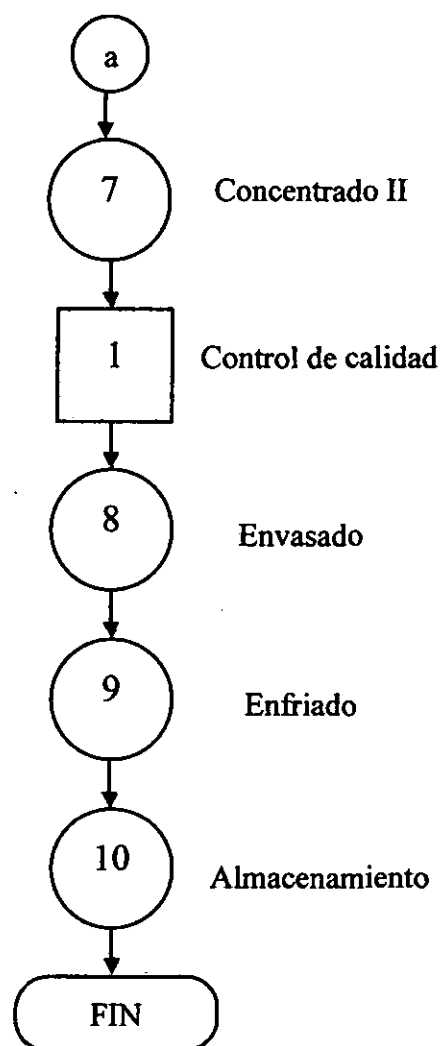
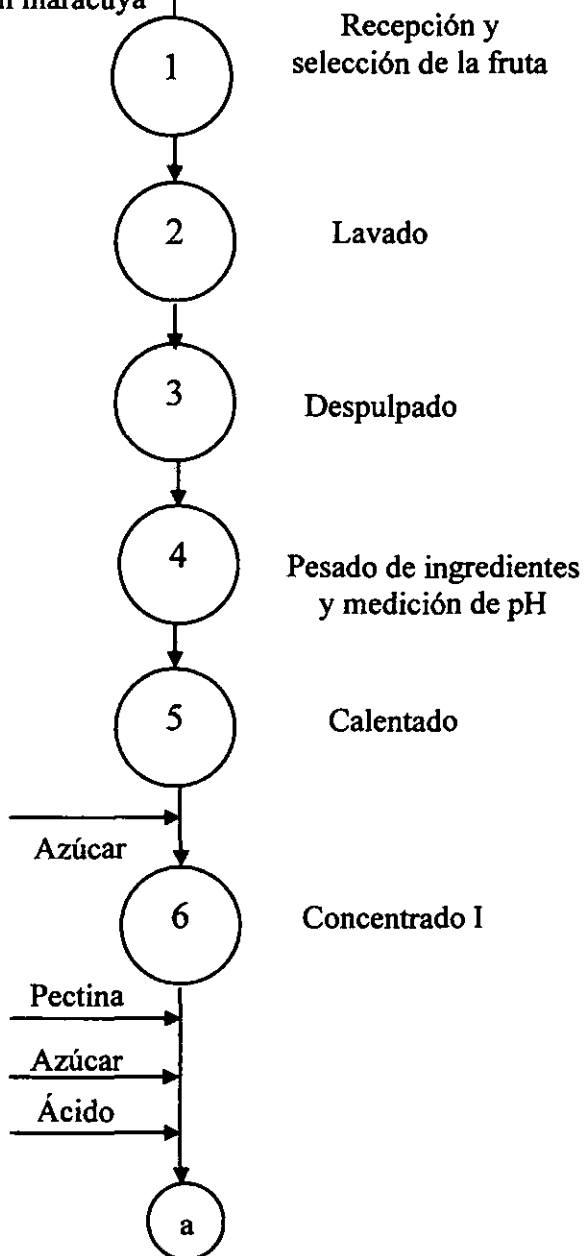
<p>Selección</p> 	<p>Lavado</p> 	<p>Despulpado</p> 	<p>Adición de jugo maracuyá</p> 
<p>Medición de pH</p> 	<p>Calentado</p> 	<p>Concentrado I</p> 	<p>Concentrado II</p> 
<p>Envasado</p> 	<p>Enfriado</p> 	<p>Producto Final</p> 	

ANEXO 06

Diagrama de operaciones del proceso – Mermelada de papaya con maracuyá

Mermelada de papaya

con maracuyá



Fuente: Elaboración Propia

ANEXO 07

Análisis estadístico en programa Minitab 17

Diseño factorial completo

Factores: 3 Diseño de la base: 3; 8
Corridas: 16 Réplicas: 2
Bloques: 1 Puntos centrales (total): 0

Regresión factorial: Rendimiento vs. tiempo; pH; Agente

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	7	43,9634	6,2805	9,19	0,003
Lineal	3	5,8753	1,9584	2,86	0,104
tiempo	1	4,6225	4,6225	6,76	0,032
pH	1	1,1772	1,1772	1,72	0,226
Agente	1	0,0756	0,0756	0,11	0,748
Interacciones de 2 términos	3	34,9196	11,6399	17,03	0,001
tiempo*pH	1	13,5424	13,5424	19,81	0,002
tiempo*Agente	1	20,6116	20,6116	30,15	0,001
pH*Agente	1	0,7656	0,7656	1,12	0,321
Interacciones de 3 términos	1	3,1684	3,1684	4,63	0,063
tiempo*pH*Agente	1	3,1684	3,1684	4,63	0,063
Error	8	5,4692	0,6836		
Total	15	49,4326			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0,826831	88,94%	79,26%	55,74%

Coefficientes codificados

Término	Efecto	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante		7,311	0,207	35,37	0,000	
tiempo	1,075	0,537	0,207	2,60	0,032	1,00
pH	-0,543	-0,271	0,207	-1,31	0,226	1,00
Agente	0,138	0,069	0,207	0,33	0,748	1,00
tiempo*pH	1,840	0,920	0,207	4,45	0,002	1,00
tiempo*Agente	-2,270	-1,135	0,207	-5,49	0,001	1,00
pH*Agente	0,438	0,219	0,207	1,06	0,321	1,00
tiempo*pH*Agente	0,890	0,445	0,207	2,15	0,063	1,00

Ecuación de regresión en unidades no codificadas

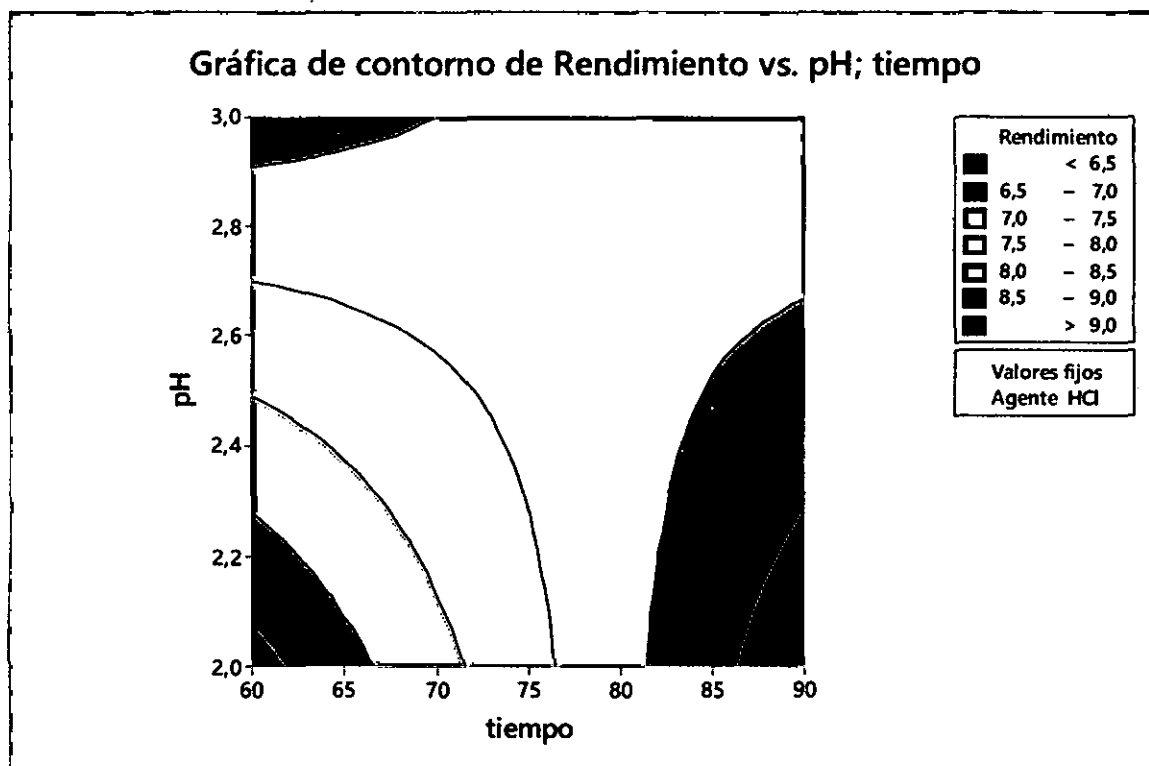
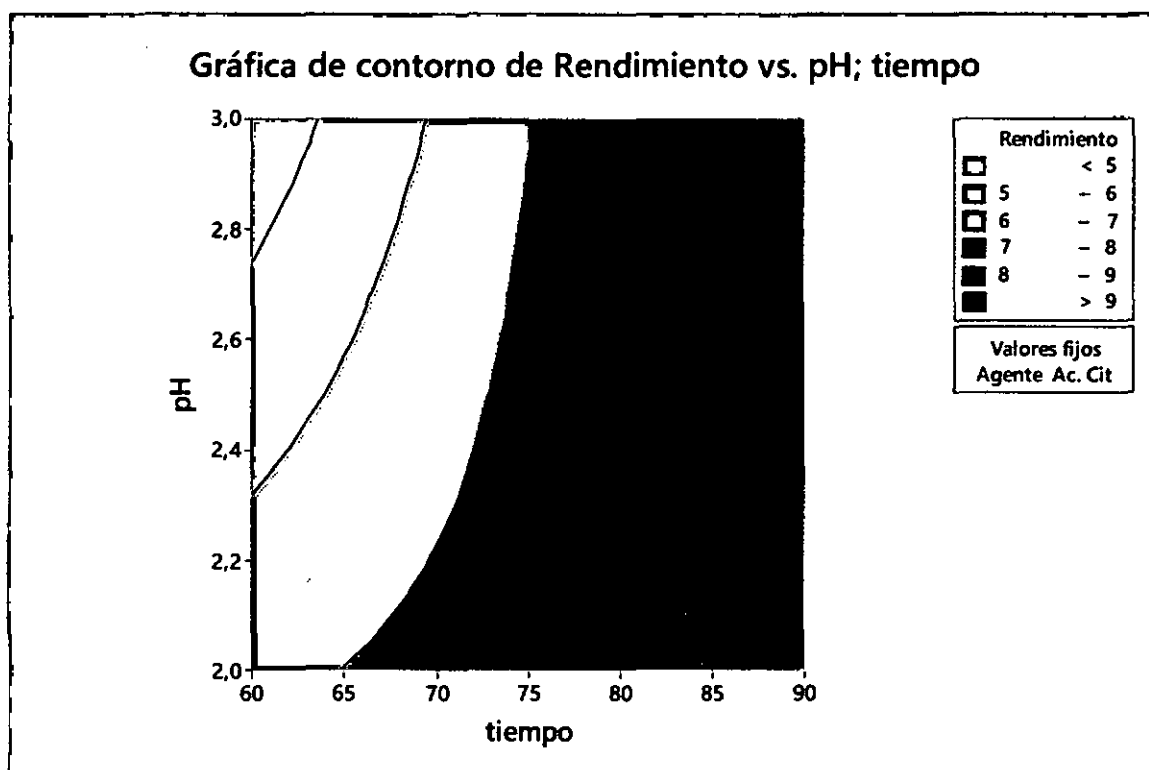
Rendimiento = 28,98 - 0,2708 tiempo - 9,74 pH + 15,78 Agente + 0,1227 tiempo*pH
- 0,2240 tiempo*Agente - 4,01 pH*Agente + 0,0593 tiempo*pH*Agente

Ajustes y diagnósticos para observaciones poco comunes

Obs	Rendimiento	Ajuste	Resid	Resid est.
7	5,330	6,560	-1,230	-2,10 R
15	7,790	6,560	1,230	2,10 R

ANEXO 08

Gráficas de contorno para evaluación de la influencia de las variables sobre el rendimiento de pectina



ANEXO 09

Ficha de evaluación sensorial

Producto : MERMELADA DE PAPAYA CON MARACUYÁ
Nombre : _____
Fecha : _____

Instrucciones: Pruebe las muestras e indique el número correspondiente, según el sabor, olor, color y textura de su agrado.

	PCC	PCOM
Color		
Olor		
Sabor		
Textura		

1 = Me desagrada mucho

2 = Me desagrada poco

3 = Ni me agrada ni me desagrada

4 = Me agrada poco

5 = Me agrada mucho

Recomendaciones:

MUCHAS GRACIAS

ANEXO 10

Tablas de resultados para la evaluación sensorial

Jueces	TEXTURA		COLOR		SABOR		OLOR	
	PCC	PCOM	PCC	PCOM	PCC	PCOM	PCC	PCOM
1	4	3	1	3	4	3	3	3
2	3	4	3	4	4	5	4	5
3	3	4	2	4	4	4	4	4
4	4	4	3	4	5	4	3	4
5	2	4	3	5	4	5	4	5
6	4	4	3	4	5	4	4	3
7	4	5	3	4	5	5	4	5
8	5	4	1	4	4	3	4	3
9	4	4	2	4	4	4	4	4
10	4	5	4	4	4	3	4	4
11	3	4	3	5	4	3	4	5
12	3	5	4	4	4	5	4	5
13	5	3	2	4	5	4	4	4
14	2	4	3	4	5	3	3	4
15	3	4	4	4	4	3	4	5
Promedio	3.53	4.07	2.73	4.07	4.33	3.87	3.8	4.2

Fuente: Elaboración Propia

ANEXO 11

Resultados del ANVA para la evaluación sensorial

Análisis de varianza para calificación del color

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Filas	10.2	14	0.72857143	1.8	0.141699467	2.48372574
Columnas	13.3333333	1	13.3333333	32.9411765	5.11825E-05	4.60010994
Error	5.66666667	14	0.4047619			
Total	29.2	29				

Análisis de varianza para calificación del sabor

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Filas	7.2	14	0.51428571	1.22727273	0.35344434	2.48372574
Columnas	1.63333333	1	1.63333333	3.89772727	0.06841716	4.60010994
Error	5.86666667	14	0.41904762			
Total	14.7	29				

Análisis de varianza para calificación del olor

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Filas	7	14	0.5	1.84210526	0.13257479	2.48372574
Columnas	1.2	1	1.2	4.42105263	0.05406938	4.60010994
Error	3.8	14	0.27142857			
Total	12	29				

Análisis de varianza para calificación de la textura

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Filas	6.8	14	0.48571429	0.68918919	0.75243046	2.48372574
Columnas	2.13333333	1	2.13333333	3.02702703	0.10381411	4.60010994
Error	9.86666667	14	0.7047619			
Total	18.8	29				